Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

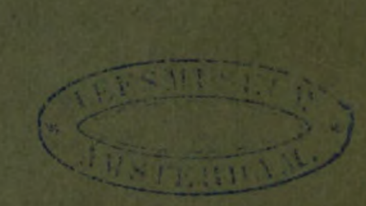
Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Einundvierzigster Band.

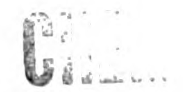
Ausgegeben am 21. Mai 1912.

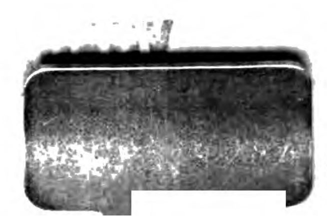




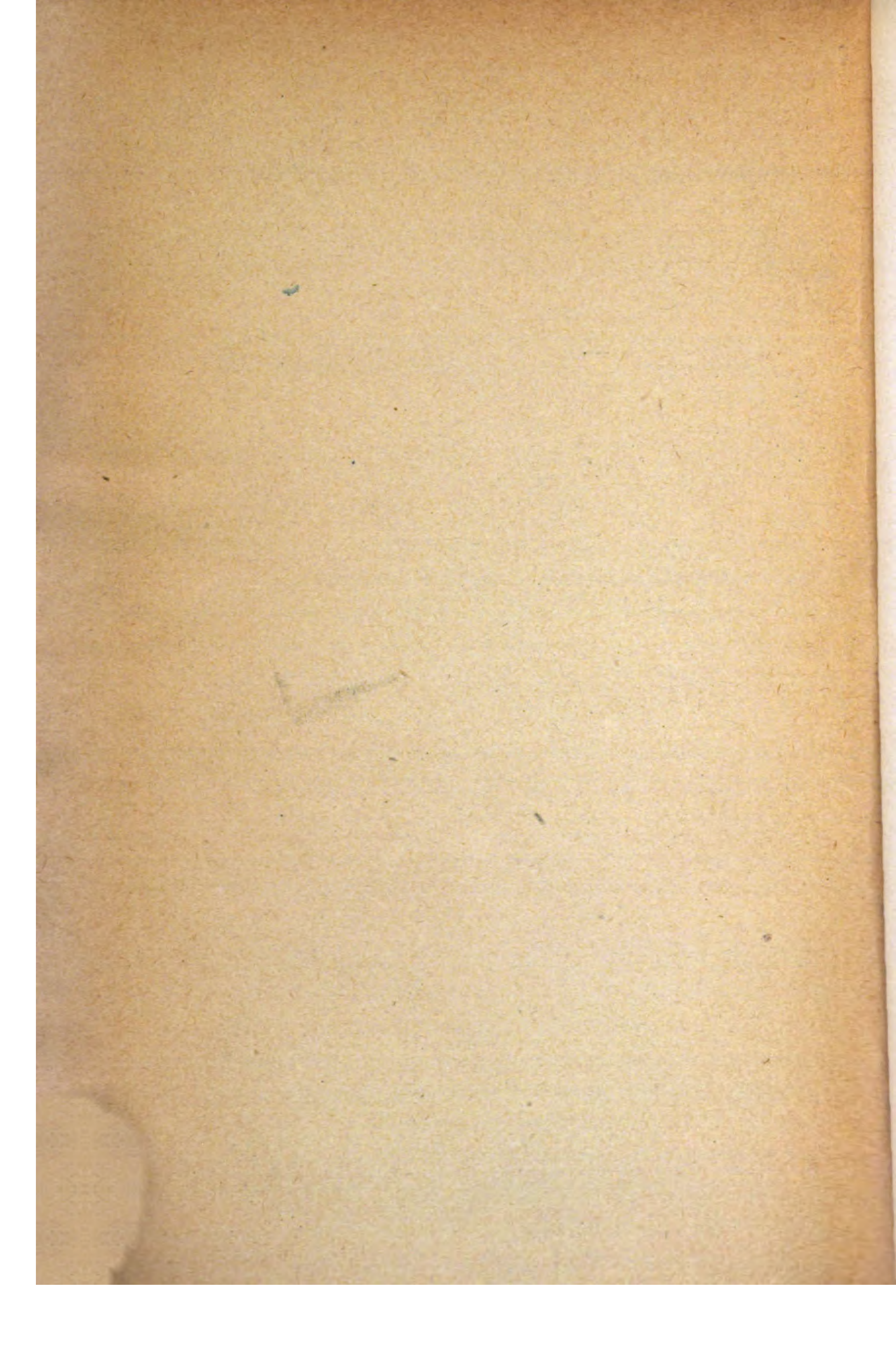
Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1912.








KOSTER BOEKB



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Einundvierzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1912.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Über die Potentialdifferenzen an der unversehrten und verletzten Oberfläche pflanzlicher und tierischer Organe.

Von

Jacques Loeb und Reinhard Beutner.

(Aus dem Rockefeller Institute, New York.)

(Eingegangen am 18. März 1912.)

I.

Die weitere Verfolgung der Frage nach der physiologischen Wirkung der Salze machte es nötig, auch das Problem der elektrischen Potentialunterschiede zu berücksichtigen, welche bei lebenden Gebilden beobachtet werden. Für die umfangreiche Literatur des Gegenstandes sei der Leser auf die ausführlichen Darstellungen von Hoeber[1]), Max Cremer[2]) und Garten[3]) verwiesen. Auch die spezielleren physikalisch-chemischen Grundlagen dieses Gebietes, insbesondere die Arbeiten von Nernst und Haber und ihren Schülern, müssen wir als bekannt voraussetzen[4]). Hier beschränken wir uns auf die Erwähnung der Arbeiten, welche zu unseren Versuchen in einer unmittelbaren Beziehung stehen.

Die Vermutung, daß die Membranen oder Oberflächenlamellen tierischer Zellen oder Gewebe der Sitz der bioelektrischen Potentialunterschiede seien, wurde zuerst von Wilhelm Ostwald ausgesprochen, der annahm, daß diese Membranen

---

[1]) Hoeber, Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. Leipzig 1911.

[2]) Cremer, Nagels Handbuch der Physiologie 4, 868, 1909.

[3]) Garten, Wintersteins Handbuch der vergleichenden Physiologie 1911.

[4]) Den Zusammenhang unserer Versuche mit der Nernstschen Theorie der Reizung wird Beutner in einer besonderen Arbeit besprechen.

einen verschiedenen Grad der Durchlässigkeit für positive und negative Ionen besitzen. Bernstein brachte für diese Annahme eine direkte Stütze. Nach Nernst gilt für die elektromotorischen Kräfte an der Grenze einer wässerigen und wasserunlöslichen Phase die folgende Formel:

$$E = \frac{RT}{nT} \ln \frac{C_1}{C_2},$$

wo T die absolute Temperatur ist.

Bernstein wies nach, daß für den Muskel der Potentialunterschied zwischen einer verletzten und unverletzten Stelle annähernd der Temperatur proportional ist. Die Übereinstimmung war keine ganz vollkommene, was bei der Natur des gewählten Objektes und dem engen Bezirk, innerhalb dessen die Temperatur für den Froschmuskel harmlos ist, nicht zu verwundern braucht. Beim Nerven war die Übereinstimmung weniger befriedigend. Bernstein kam zum Resultat, daß die von ihm beobachteten Erscheinungen ihre Erklärung unter der Annahme finden, daß die Membran durchgängig für die im Muskel enthaltenen Kationen, z. B. K, weniger durchgängig für Anionen (PO_4) ist. Darauf beruhe auch der sogenannte Ruhestrom des Muskels.

Eine Betrachtung der Nernstschen Formel zeigt, daß es noch eine zweite Klasse von Variabeln gibt, welche zur Prüfung der Gültigkeit seines Gesetzes für die bei lebenden Gebilden beobachteten Potentialunterschiede benutzt werden kann, nämlich die Konzentration der Lösungen an der Grenze der Membranen. Der wesentliche Inhalt unserer Arbeit besteht nun darin, daß wir zeigen, daß sich die von der Nernstschen Formel geforderte logarithmische Abhängigkeit der Potentialunterschiede von der Konzentration auch wirklich nachweisen läßt; und zwar in dem Sinne, als ob die Membranen für Kationen „durchlässiger" seien als für Anionen.

Gelegentliche Beobachtungen über den Einfluß der Konzentration finden sich nun schon in früheren Arbeiten, was ja bei einem so vielseitig abgesuchten Gebiet wie das der tierischen Elektrizität ist, nicht zu verwundern ist. Sonderbar ist nur, daß die Beziehung des Konzentrationseinflusses zum Nernstschen Gesetz nicht erforscht oder erkannt wurde. So erwähnt

Biedermann[1]) und nach ihm **Oker-Blom**[2]), daß ein Muskel bei einseitiger Ableitung mit Wasser auf dieser Seite ein positives Potential annimmt, welchem ein vorübergehendes negatives voraufgeht. (Auch unsere Versuche zeigen, daß mit der Verdünnung der Lösung das positive Potential zunimmt.) Auch **Orbeli**[3]) beobachtete ein positives Potential bei der Ableitung mit verdünnten Lösungen oder mit Wasser als Ableitung auf einer Seite; er benutzte ganze Frösche als Versuchsobjekt. In allen diesen Versuchen ist jedoch die EMK sehr starken zeitlichen Schwankungen unterworfen und deshalb sind keine exakten Messungen möglich. Eine quantitative Prüfung des Konzentrationseinflusses oder eine Zurückführung auf die Nernstsche Formel findet man daher in diesen Arbeiten nicht. Die Anschauung von dem metallähnlichen Verhalten von Phasengrenzenpotentialen lag den meisten Physiologen fern, da die Hermannsche Alterationstheorie ihre Aufmerksamkeit in eine andere Richtung gelenkt hatte.

Brünings[4]) gibt für den Muskel dasselbe Resultat wie **Biedermann** und **Oker-Blom**, nur daß er Zuckerlösungen an Stelle von Wasser zur Ableitung benutzte, wobei dann die mit Zucker in Berührung stehende Stelle des Objektes auch positiv war. Dieser Autor diskutiert die Möglichkeit der Abhängigkeit der EMK von der Verdünnung ausdrücklich, kommt aber zu dem Schluß, daß an physiologischen Membranen eine solche Abhängigkeit nicht besteht. Sein Grund hierfür ist, daß er an künstlichen halbdurchlässigen Membranen eine solche Konzentrationsabhängigkeit nicht nachweisen konnte; bei der Schwierigkeit, vollkommene halbdurchlässige Membranen herzustellen, ist das nicht überraschend.

Der einzige Autor, der eine Beziehung zwischen EMK und Konzentration nachgewiesen hat ist, **J. S. Mac Donald**[5]). Er maß in der üblichen Anordnung den Längenschnitt-Querschnittstrom von Warmblüternerven. Vor der Messung wurde

---

[1]) **Biedermann**, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 81, Abt. 3, 74, 1880.

[2]) **Oker-Blom**, Arch. f. d. ges. Physiol. 84, 191, 1901.

[3]) **Orbeli**, Zeitschr. f. Biol. 54, 329, 1910.

[4]) **Brünings**, Arch. f. d. ges. Physiol. 117, 425, 1907.

[5]) **Mac Donald**, Proc. Roy. Soc. 67, 310, 1900.

der Nerv einige Minuten lang in eine Lösung bestimmter Konzentration gelegt. Es zeigte sich dann, daß die EMK des Ruhestroms um so größer ist, je kleiner die Konzentration dieser Lösung. Als Elekrolyte wurden NaCl, KCl, NH_4Cl, HCl u. a. verwendet, alle mit dem gleichen Effekt. Er beweist, daß EMK und Konzentration der Spüllösung in logarithmischer Abhängigkeit voneinander sind, welcher er die folgende empirische Form gibt: $E = \mathrm{Const}_1 \cdot \log. \frac{\mathrm{Const}_2}{\mathrm{C}}$, wo C die Konzentration der Spüllösung ist. Die Nernstsche Formel scheint dem Autor nicht bekannt gewesen zu sein und die empirische Const_1 in Mac Donalds Formel ist eine Funktion einer elektromotorischen Kraft, während sie bei Nernst $= \frac{TR}{F}$ ist. Bei den Bedingungen, unter denen Mac Donalds Versuche ausgeführt wurden, war eine Prüfung der Nernstschen Formel auch wohl kaum durchführbar.

Der Sinn, in welchem sich nach diesen Versuchen die EMK mit der Konzentration ändert, stimmt mit den Angaben der vorhin erwähnten Beobachter überein, wenn man die sicherlich naheliegende Annahme macht, daß der Nerv bei der kurzen Einwirkungsdauer vorwiegend auf der Außenseite mit der Spüllösung behaftet wird. Die Außenseite ist positiv, Anwachsen des Ruhestroms bedeutet also positiver werden der mit der Spüllösung behafteten Membran, und dies tritt bei Verdünnung ein.

II. Methode der Versuche.

Es war aus der Literatur des Gegenstandes ersichtlich, daß Versuche an Muskel und Nerv und vielleicht aller aus dem Innern des Körpers genommenen Organe nicht leicht klare Resultate geben würden. Wir wählten daher Objekte mit kräftiger und dauerhafter Oberflächenmembran, wie die Blätter des Gummibaums, Apfel, Tomaten, und als Beispiele tierischer Objekte die menschliche Hand, und den Frosch. Es wurde darauf geachtet, daß die Objekte völlig unversehrt waren. In der Mehrzahl der Versuche wurde folgendermaßen verfahren: Der Apfel oder die Tomate tauchte mit einem Ende in die Zuleitungsflüssigkeit *a*, welche in einer Schale enthalten war. An

dem andern freien Ende wurde in den Apfel ein kleines Loch gemacht, in welches einige Kubikzentimeter der Zuleitungsflüssigkeit *b* gebracht wurden, so daß wir folgende Anordnung hatten:

Flüssigkeit *a*	Apfel intakt verletzt	Flüssigkeit *b*

Flüssigkeit *b* blieb während einer Versuchsreihe unverändert; die Konzentration der Flüssigkeit *a* (am unverletzten Ende des Apfels) wurde geändert: Wir werden später sehen, warum wir es für nötig hielten die Flüssigkeit bei *b* konstant zu halten und nur die Flüssigkeit an der intakten Außenseite des Objektes zu variieren. Bei Versuchen mit der Tomate verfuhren wir ähnlich; und bei Versuchen mit dem Gummiblatt tauchte der verletzte Stengel in eine Flüssigkeit *b*, die unverändert blieb, während die intakte Spitze des Blattes in die variierende Flüssigkeit *a* tauchte. Die Ableitung geschah mit Kalomelelektroden und die Flüssigkeit in den Elektroden war in verschiedenen Versuchen verschieden, je nach dem Salze, dessen Einfluß auf die EMK untersucht werden sollte. Um eine Diffusion von Salz aus der Elektrodenflüssigkeit in die bisweilen sehr verdünnte Lösung bei *a* zu verhindern, wurde zwischen beide ein Gefäß mit der gleichen verdünnten Lösung geschaltet.

Die Messungen der EMK wurden zum Teil mit der Poggendorfschen Kompensationsmethode (Null-Instrument: Capillar-Elektrometer), zum Teil durch direkte Ablesung mit dem Dolezalekschen Binanten-Elekrometer (Spiegelablesung) bestimmt. Bei dem ersten Verfahren konnte eine Genauigkeit von 1 bis 2 Millivolt erzielt werden, aber wegen des erheblichen inneren Widerstandes der verwendeten Gewebe war die Ausführung häufig schwierig, und die Messung mit dem Elektrometer vorzuziehen.

Das Elekrometer war auf eine hohe Empfindlichkeit eingestellt, so daß 1 mm der Skala etwa 1 Millivolt entsprach, die Fehlergrenze der Messung war etwa 1 Millivolt. Die Aichung konnte bei der großen Empfindlichkeit nicht direkt mit dem Normalelement ausgeführt werden, da die Skala nicht ausgereicht hätte, sondern geschah mit einer kleineren EMK

von 0,13 Volt, die ihrerseits durch Kompensationsmessung mit dem Normalelement verglichen wurde. Diese Hilfskraft gab einen Ausschlag von ca. 10 bis 12 cm auf der Skala; da der Abstand von Spiegel und Skala 2 m betrug, konnte somit die Tangente dem Winkel proportional gesetzt werden und dieser wieder ohne Bedenken der EMK, da die gesuchten EMKe in der gleichen Größenordnung lagen (ca. 0,1 Volt).

Ein Pol des Instrumentes war geerdet, der andere sorgfältigst isoliert (Aufhängung an mit Paraffin isolierten Haltern). Die Temperatur in unseren Versuchen war stets 18° bis 20°.

Unsere Versuche zerfallen in zwei Gruppen. In der einen Gruppe, zu der die Mehrzahl der Versuche gehört, wurde der Einfluß der Konzentration auf die EMK an der unverletzten Oberfläche gemessen; in der anderen wurde die Messung an der verletzten Oberfläche gemessen. Diese letzteren Versuche werden in einem besonderen Kapitel geschildert.

Änderte man nun in der ersten Gruppe der Versuche die Konzentration an der unverletzten Seite des Apfels oder Blattes, so änderte sich die EMK momentan, d. h. wenigstens so schnell als eine neue Messung ausgeführt werden konnte, und der jeder Konzentration entsprechende Wert blieb annähernd konstant.

Kette:

Hg|HgCl, $^1/_{10}$ n-KCl| Apfel |$^1/_{10}$ oder $^1/_{100}$ KCl|$^1/_{10}$ n-KCl HgCl|Hg

— Obere bloßgelegte Stelle — Untere unversehrte Stelle +

			Zeit
$^1/_{10}$ n-KCl	0,019	Volt	0′
$^1/_{10}$,,	0,021	,,	6′
$^1/_{100}$,,	0,066	,,	8′
$^1/_{100}$,,	0,064	,,	17′

Differenz der Mittelwerte 0,045 Volt

Wir teilen zunächst die Versuchsresultate bei Änderung der Verletzung an der unverletzten Seite des Apfels mit.

III. Die Gültigkeit des Nernstschen Gesetzes für den Einfluß der Konzentration an der unverletzten Oberfläche.

Wir haben schon erwähnt, daß Bernstein im Anschluß an Ostwald annahm, daß die Oberflächenlamelle des Muskels

für Kationen durchgängig für Anionen undurchgängig ist. Wir wollen zuerst zeigen, daß wenn wir die Konzentration der Flüssigkeit an der Außenseite einer Membran vermindern, diese Seite positiver wird; und zweitens, daß dieselbe, sagen wir etwa 5fache, Verdünnung auch jedesmal dieselbe Erhöhung der elektromotorischen Kraft bedingt, gleichviel ob wir die Konzentration der Zuleitungsflüssigkeit von $^{m}/_{50}$ auf $^{m}/_{250}$ oder von $^{m}/_{250}$ auf $^{m}/_{1250}$ erniedrigen. Bei zu hohen Konzentrationen der Zuleitungsflüssigkeit treten Änderungen der Membran ein, was sich dadurch zeigen läßt, daß nunmehr eine Wiederholung der Versuche nicht mehr die alten Werte für die Potentialunterschiede gibt. Benutzen wir als Zuleitungsflüssigkeit zu niedrige Konzentrationen, z. B. $^{m}/_{6250}$ oder darunter, so kann die Diffusion der Flüssigkeit aus der Kalomelelektrode störend wirken.

Wenn wir den Einfluß berechnen, den eine 5fache Verdünnung der Zuleitungsflüssigkeit a auf der unverletzten Seite des Blattes oder Apfels hat, so ergibt sich derselbe aus der folgenden Formel (unter Voraussetzung, daß die Oberflächenlamelle nur für Kationen durchgängig ist) $\frac{RTna}{Fw} \ln 5$, wobei n die Überführungszahl des Anion, a die Anzahl der Ionen des Moleküls, w die Wertigkeit des Kations bedeutet. Bei dieser Berechnung ist die Änderung des Diffusionspotentiales an der Grenze der Elektrodenflüssigkeit und der Lösung variabler Konzentration mit berücksichtigt. Es ist hierfür erforderlich, daß Elektrodenlösung und Lösung variabler Konzentration dasselbe Salz enthalten; diese Bedingung ist bei den folgenden Versuchen erfüllt. Im Versuch mit KCl enthielten die Elektroden $^{n}/_{10}$-KCl, im Versuch mit NaCl $^{n}/_{10}$-NaCl, im Versuch mit $CaCl_2$ $^{m}/_{10}$-$CaCl_2$, usw.

Wir geben nun eine Reihe von beobachteten Werten und stellen die berechneten daneben. Wir wollen noch einmal bemerken, daß die Konzentration der Zuleitungsflüssigkeit stets auf der intakten Seite des Apfels oder der Tomate oder an der intakten Spitze des Blattes geändert wurde, während die Zuleitungsflüssigkeit an der verletzten Stelle unverändert blieb.

Untersuchungen am Blatt der Gummipflanze (Ficus elastica).

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{10}$	n-KCl	0,013 Volt		
			0,023 Volt	0,040 Volt
$^1/_{50}$	,,	0,036 ,,		
			0,030 ,,	
$^1/_{250}$	,,	0,066 ,,		
			0,033 ,,	
$^1/_{1250}$	,,	0,099 ,,		
			0,031 ,,	
$^1/_{250}$	,,	0,068 ,,		
			0,032 ,,	
$^1/_{50}$	,,	0,036 ,,		
			0,024 ,,	
$^1/_{10}$	,,	0,012 ,,		

$^1/_{1250}$	n-KCl	0,102 Volt		
			0,035 Volt	0,040 Volt
$^1/_{250}$	,,	0,067 ,,		
			0,031 ,,	
$^1/_{10}$	,,	0,036 ,,		
			0,021 ,,	
$^1/_{10}$	,,	0,015 ,,		

Mittelwerte der Differenzen.

		Berechnet
$^1/_{10}$ bis $^1/_{50}$ n-KCl	0,023 Volt	0,039 Volt
$^1/_{50}$,, $^1/_{250}$,,	0,031 ,,	0,040 ,,
$^1/_{250}$,, $^1/_{1250}$,,	0,034 ,,	0,040 ,,

$^1/_{10}$ n-NaCl 0,030 Volt (Anfangswert)

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{1250}$	n-NaCl	0,141 Volt		
			0,041 Volt	0,049 Volt
$^1/_{250}$	,,	0,100 ,,		
			0,042 ,,	
$^1/_{50}$	,,	0,058 ,,		
			0,029 ,,	
$^1/_{10}$	,,	0,029 ,,		

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{10}$	n-NaCl	0,043 Volt (Anfangswert)		
$^1/_{1250}$	,,	0,141 ,,		
			0,038 Volt	0,049 Volt
$^1/_{250}$	,,	0,103 ,,		
			0,036 ,,	
$^1/_{50}$	,,	0,067 ,,		
			0,024 ,,	
$^1/_{10}$	,,	0,043 ,,		

Dieser zweite NaCl-Versuch wurde an einem anderen Objekt ausgeführt, und deshalb fielen die Resultate etwas anders aus.

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{10}$	m-$CaCl_2$	0,054 Volt		
$^1/_{50}$	„	0,066 „	0,012 Volt	0,035 Volt
$^1/_{250}$	„	0,086 „	0,020 „	
$^1/_{1250}$	„	0,116 „	0,030 „	
$^1/_{250}$	„	0,085 „	0,031 „	
$^1/_{50}$	„	0,065 „	0,020 „	
$^1/_{10}$	„	0,053 „	0,012 „	

$^1/_{10}$ m-$MgCl_2$ 0,057 Volt (Anfangswert)

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{1250}$	m-$MgCl_2$	0,126 Volt		
$^1/_{250}$	„	0,093 „	0,033 Volt	0,037 Volt
$^1/_{50}$	„	0,070 „	0,023 „	
$^1/_{10}$	„	0,056 „	0,014 „	

$^1/_{10}$ m-$BaCl_2$ 0,048 Volt (Anfangswert)

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{1250}$	m-$BaCl_2$	0,113 Volt		
$^1/_{250}$	„	0,084 „	0,029 Volt	0,034 Volt
$^1/_{50}$	„	0,062 „	0,022 „	
$^1/_{10}$	„	0,051 „	0,011 „	

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{1250}$	m-$BaCl_2$	0,118 Volt		
$^1/_{250}$	„	0,085 „	0,033 Volt	0,034 Volt
$^1/_{50}$	„	0,061 „	0,024 „	
$^1/_{10}$	„	0,048 „	0,013 „	

$^1/_{10}$ n-LiCl 0,055 Volt (Anfangswert)

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{1250}$	n-LiCl	0,158 Volt		
$^1/_{250}$	„	0,119 „	0,039 Volt	0,055 Volt
$^1/_{50}$	„	0,079 „	0,040 „	
$^1/_{10}$	„	0,053 „	0,026 „	

Jeder einzelne der hier angegebenen Werte stellt einen Mittelwert dar, da jede Messung nach einigen Minuten wiederholt wurde, um die Konstanz zu prüfen. Die Schwankungen

betrugen bisweilen 1 oder 2 Millivolt, meistens änderte sich die Einstellung überhaupt nicht. Alle hier angegebenen Werte sind außerdem, wie man sieht, reversibel, Anfangswert und Endwert jeder Reihe sind innerhalb der Fehlergrenzen gleich. Die Präzision dieser Messungen übertrifft somit die anderer bioelektrischer Messungen ganz erheblich.

An demselben Objekt wurden ferner Versuche mit $ZnSO_4$ und $AlCl_3$ angestellt, welche jedoch nicht reversible Werte lieferten und deshalb an dieser Stelle nicht aufgeführt sind.

Ferner wurden analoge Versuche an Tomaten durchgeführt. Die Konstanz der einzelnen Werte war hier etwas geringer; Schwankungen bis zu 4 Millivolt kommen vor.

Untersuchungen an Tomaten.

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{10}$	n-KCl	0,001 Volt	0,028 Volt	0,040 Volt
$^1/_{50}$	„	0,029 „	0,030 „	
$^1/_{250}$	„	0,059 „	0,032 „	
$^1/_{1250}$	„	0,081 „	0,032 „	
$^1/_{6250}$	„	0,103 „		

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{5000}$	m-$CaCl_2$	0,117 Volt	0,040 Volt	0,033 Volt
$^1/_{1000}$	„	0,077 „	0,036 „	
$^1/_{200}$	„	0,041 „	0,028 „	
$^1/_{40}$	„	0,013 „	0,013 „	
$^1/_{8}$	„	0,0 „	0,009 „	
$^1/_{40}$	„	0,009 „	0,030 „	
$^1/_{200}$	„	0,039 „	0,033 „	
$^1/_{1000}$	„	0,072 „		
$^1/_{1250}$	m-$MgCl_2$	0,102 Volt	0,027 Volt	0,037 Volt
$^1/_{250}$	„	0,075 „	0,024 „	
$^1/_{50}$	„	0,051 „	0,020 „	
$^1/_{10}$	„	0,031 „		

Versuche am Apfel fielen ähnlich aus und brauchen deshalb hier nicht mitgeteilt zu werden.

Diese Versuche zeigen erstens, daß mit abnehmender Konzentration der Salzlösung an der intakten Oberflächenlamelle der Objekte die Potentialdifferenz immer positiver wird. Aus

dieser Tatsache müssen wir schließen, daß die Membranpotentiale in bezug auf das Kation reversibel sind, oder nach der physiologischen Terminologie, daß die Membran für Kationen, aber nicht oder weniger für Anionen durchgängig ist. Das stützt sich auf die bekannte Erfahrung, daß, wenn wir in einer Kette wie Hg | HgCl, KCl | $CuSO_4$ | Cu | $CuSO_4$ | KCl, HgCl | Hg die $CuSO_4$-Lösung auf einer Seite verdünnen, diese Seite auch positiver wird.

Zweitens zeigen unsere Versuche, daß in Übereinstimmung mit Nernsts Theorie die Differenzen der Potentialunterschiede zwischen einer $^m/_{50}$ und einer $^m/_{250}$ Lösung einerseits und $^m/_{250}$ und $^m/_{1250}$ andererseits gleich sind. Die Differenzen sind auch nahezu dieselben für das Intervall $^m/_{10}$ und $^m/_{50}$, und die Abweichungen lassen sich wohl aus dem nachweisbaren Einfluß der Salze auf die Membranen erklären.

Die gefundenen Differenzen weichen ein wenig von den berechneten ab, aber so gut wie ausschließlich in demselben Sinne: sie sind nämlich alle etwas zu klein. Da nun die Berechnung unter der Voraussetzung erfolgt ist, daß die Membran für Anionen völlig undurchgängig ist, so ist die von uns gefundene geringe Abweichung von den unter dieser Annahme zu erwartenden Zahlen vielleicht dadurch bedingt, daß in Wirklichkeit die Undurchgängigkeit der Membran für Anionen nicht absolut ist.

Endlich zeigen diese und die weiteren Versuche, daß für dieselben Verdünnungen eines Salzes dieselben Potentialunterschiede erreicht werden, gleichviel in welcher Ordnung die verschiedenen Konzentrationen sich folgen. Eine Ausnahme erleidet dieser Satz nur für zu hohe Konzentrationen, worauf wir noch zurückkommen.

IV. Der Einfluß der Anionen.

Der Schluß, daß es sich um Durchgängigkeit für Kationen und relativ geringe Durchgängigkeit für Anionen handelt, läßt sich auch dadurch prüfen, daß wir Natriumsalze mit verschiedenen Anionen vergleichen. Bei der Wahl von Natriumsalzen sollte, wenn es nur auf das Kation ankäme, die EMK bei gleicher Verdünnung stets um denselben Wert geändert werden, gleichviel was das Anion ist; und ferner sollte die

EMK für Natriumsalze mit Anionen verschiedener Wertigkeit dann dieselbe sein, wenn bei der Wahl eines zweiwertigen Anions die Verdünnung halb so groß ist wie bei der Wahl eines einwertigen Anions. Wir beginnen zunächst mit einer Versuchsreihe, welche zeigt, daß das letztere Resultat zutrifft. NaCl gibt dieselbe Potentialdifferenz wie eine zweimal so stark verdünnte Lösung von Na_2SO_4.

Die Versuche sind am Apfel angestellt.

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{10}$	m-NaCl	0,039 Volt	0,051 Volt	0,058 Volt
$^1/_{100}$	„	0,090 „	0,049 „	
$^1/_{1000}$	„	0,139 „		
$^1/_{2000}$	m-Na_2SO_4	0,141 „	0,049 „	
$^1/_{200}$	„	0,092 „	0,042 „	
$^1/_{20}$	„	0,050 „		

Wie man sieht, entsprechen die EMKe der Theorie. Die weiteren Versuche sind ebenfalls am Apfel angestellt.

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_8$	m-NaCl	0,020 Volt	0,044 Volt	0,049 Volt
$^1/_{40}$	„	0,064 „	0,043 „	
$^1/_{200}$	„	0,107 „	0,042 „	
$^1/_{1000}$	„	0,149 „		
$^1/_{40}$	„	0,063 „		

			Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{40}$	m-NaBr	0,058 Volt	0,045 Volt	0,049 Volt
$^1/_{200}$	„	0,103 „	0,041 „	
$^1/_{1000}$	„	0,144 „	0,042 „	
$^1/_{200}$	„	0,102 „	0,042 „	
$^1/_{40}$	„	0,060 „	0,040 „	
$^1/_8$	„	0,020 „		
$^1/_8$	m-NaJ	0,048 Volt	0,042 Volt	0,049 Volt
$^1/_{40}$	„	0,090 „	0,040 „	
$^1/_{200}$	„	0,130 „	0,043 „	
$^1/_{1000}$	„	0,173 „	0,047 „	
$^1/_{200}$	„	0,126 „	0,041 „	
$^1/_{40}$	„	0,085 „	0,041 „	
$^1/_8$	„	0,044 „		

Konzentration	Lösung	Potential	Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{250}$	m-NaCl	0,077 Volt	0,036 Volt	0,040 Volt[1]
$^1/_{50}$	"	0,041 "	0,035 "	
$^1/_{10}$	"	0,006 "		

Konzentration	Lösung	Potential	Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{2500}$	m-$Na_2C_2O_4$	0,124 Volt	0,040 Volt	0,040 Volt
$^1/_{500}$	"	0,084 "	0,036 "	
$^1/_{100}$	"	0,048 "	0,031 "	
$^1/_{20}$	"	0,017 "	0,023 "	0,035 "
$^1/_{5}$	"	−0,006 "		
$^1/_{500}$	"	0,084 "		

Diese Werte erwiesen sich während einer 2 bis 5 Minuten währenden Beobachtung innerhalb 1 bis 2 Millivolt unveränderlich. Größer waren die Abweichungen bei Natriumcitrat ($Na_3C_6O_7H$), mit dem ebenfalls einige Versuche angestellt wurden, welche hier folgen. In allen Fällen erwies sich die Konzentrationsveränderlichkeit des Potentials gegen KCl oder NaCl veränderlicher Konzentration vor und nach jeder Versuchsreihe als unverändert. Die Schale war also offenbar durch keines der Salze angegriffen.

Konzentration	Lösung	Potential	Differenz beobachtet	Differenz berechnet
$^1/_{30}$	m-$Na_3C_6O_7H$	0,014 Volt	0,020 Volt	0,040 Volt
$^1/_{150}$	"	0,034 "	0,034 "	
$^1/_{750}$	"	0,068 "	0,034 "	
$^1/_{3750}$	"	0,102 "	0,035 "	
$^1/_{750}$	"	0,067 "	0,035 "	
$^1/_{150}$	"	0,032 "	0,024 "	
$^1/_{30}$	"	0,008 "	0,019 "	
$^1/_{6}$	"	−0,011 "		

Diese Versuche dürfen als weiterer Beleg für die im vorigen Kapitel gezogenen Schlüsse gelten.

V. Versuche mit Nichtleitern.

Wir müssen nun den Einwand betrachten, ob rein osmotische Wirkungen hier in Betracht kommen. Das können wir durch Versuche mit Nichtelektrolyten wie Rohrzucker prüfen,

---

[1]) Bei diesen drei Versuchsreihen war $^n/_{10}$-KCl-Lösung als Elektrodenflüssigkeit verwendet, das Diffusionspotential ist hier bei der Berechnung vernachlässigt und die EMK-Änderung gleich $\frac{RT}{F} \ln 5$ gesetzt.

für welche die Membran denselben Grad der Undurchgängigkeit besitzt wie für Salze.

Es wurde die EMK der Kette

$$-\text{Hg} \mid \text{HgCl}, {}^{m}/_{10}\text{-KCl} \mid \underset{\text{verletzt}}{\text{Apfel}} \mid \underset{\text{intakt}}{{}^{m}/_{100}\text{-NaCl}} \mid {}^{m}/_{10}\text{-KCl}, \text{HgCl} \mid \text{Hg} +$$

zu 0,092 Volt bestimmt. Darauf wurde der $^{n}/_{100}$-NaCl-Lösung so viel Rohrzucker zugefügt, daß die Gesamtkonzentration etwas über $^{m}/_{2}$ war. Nachdem aller Zucker sich gelöst hatte und die Lösung gründlich gemischt war, wurde die EMK wieder bestimmt. Sie betrug 0,093 Volt, war also praktisch unverändert. Diese Versuche wurden mit der Tomate wiederholt, in folgender Anordnung:

$$\text{Hg} \mid \text{HgCl}, {}^{m}/_{10}\text{-KCl} \mid \text{Tomate} \mid {}^{m}/_{800}\text{-KCl} \mid {}^{m}/_{10}\text{-KCl}, \text{HgCl} \mid \text{Hg}$$

verletzt unverletzt mit Rohrzucker verschied. Konzentrationen

Konzentration des Rohrzuckers	EMK	
$^{m}/_{500}$	0,093 Volt	
$^{m}/_{100}$	0,093 ,,	
$^{m}/_{20}$	0,093 ,,	
$^{m}/_{4}$	0,075 ,,	
darauf wieder $^{m}/_{500}$	0,074 ,,	nach 10′ 0,084 Volt

Also nur bei hohen Konzentrationen ist eine geringe irreversible Beeinflussung der EMK vorhanden, die vermutlich durch chemische Einwirkung entstanden ist.

Ein ähnlicher Versuch wurde mit Harnstoff als Nichtelektrolyt am Blatt einer Gummipflanze wiederholt.

Konzentration des Harnstoffs	EMK.
$^{4}/_{125}$ m	0,090 Volt
$^{4}/_{25}$ m	0,090 ,,
$^{4}/_{5}$ m	0,095 ,,
4 m	0,097 ,,

Auch diese geringfügige Änderung der EMK war irreversibel; ähnlich verhielt sich das Glycerin.

Konzentration von Glycerin	EMK
0	0,078 Volt
5 mol.	0,082 ,,

Durch Änderung der Konzentration von Nichtelektrolyten können wir Schädigung der Membran, aber sonst keine Änderung

der EMKe hervorbringen. Die mit reinen Lösungen von Nichtleitern gefundenen Potentialunterschiede sind identisch mit den in reinem Wasser gefundenen, solange die Konzentration der Nichtleiter nicht so hoch ist, daß die Oberflächenlamelle geschädigt wird.

Versuche mit einigen solcher Nichtleiter, welche als typische Anaesthetica wirken, wie Alkohol und Chloroform, ließen dagegen eine sehr erhebliche Wirkung auf das Potential erkennen. Unsere diesbezüglichen Versuche sollen noch fortgesetzt werden, doch läßt sich aus den bisherigen Beobachtungen zweierlei konstatieren: 1. daß Chloroform oder Alkohol, von einer gewissen Konzentration ab der Lösung *a* zugefügt, das Potential erheblich negativer macht. Diese Erniedrigung des Potentials ist um so stärker, je höher die Konzentration an Alkohol ist. 2. Der Einfluß der Konzentration von Salzen auf das Potential wird durch Chloroform- oder Alkoholzusatz nicht verändert.

VI. Einfluß der Wasserstoffionen.

Die Untersuchung der Wirkung der Konzentrationsunterschiede der H-Ionen interessierte uns besonders, weil die Ansicht wiederholt ausgesprochen war, daß gerade diese Ionen für die bioelektrischen Erscheinungen verantwortlich seien. Loeb hatte schon 1898 darauf hingewiesen, daß die Säurebildung bei der Tätigkeit sowie beim Absterben der Organe die Konzentration der H-Ionen in den Zellen vermehren müsse, und daß hier eine Quelle von EMKen vorliege. Aber dieser Autor dachte an Diffusionsströme, welche der Größenordnung nach für diesen Zweck nicht ausreichen. Im Anschluß an die Arbeit von Haber und Beutner untersuchten Haber und Klemensiewiecz die Phasengrenzkräfte der Kette Säure | Glas | Alkali, welche in bezug auf H-Ionen reversibel ist, und stellten die Hypothese auf, daß auch die Phasengrenze der Muskelfibrillen in bezug auf H- und OH-Ionen reversibel sei. Diese sehr ansprechende Ansicht wurde von den Biologen mit Recht als ein Fortschritt angesehen. Wir erwarteten ebenfalls bestimmt, daß unsere Versuche dieselbe bestätigen würden, das war aber in keiner Weise der Fall. Bei gleichgehaltener Gesamtkonzentration ließ sich kein Unterschied zwischen dem Potential saurer und alkalischer Lösungen nachweisen.

Kette:

$$-\mathrm{Hg} \mid \mathrm{HgCl},\ {}^{m}/_{10}\text{-KCl} \mid \underset{\text{verletzt}}{\text{Apfel}} \mid {}^{m}/_{20}\text{-NaCl}\begin{cases}\text{neutral,}\\ \text{sauer oder}\\ \text{alkalisch}\end{cases} \mid {}^{m}/_{10}\text{-KCl},$$

$$\mathrm{HgCl} \mid \mathrm{Hg}+.$$

Wir untersuchten zuerst eine neutrale $^{m}/_{20}$-NaCl-Lösung, dann eine $^{m}/_{20}$-NaCl-Lösung, der so viel NaHO zugesetzt war, daß die Lösung in bezug auf NaHO $^{1}/_{1000}$ normal war, und endlich $^{m}/_{20}$-NaCl-Lösung, der so viel HCl zugesetzt war, daß die Lösung in bezug auf HCl $^{m}/_{1000}$ normal war.

Wir fanden:

$^{m}/_{20}$-NaCl neutral	0,051 Volt,	während	5′	konstant
$^{m}/_{20}$-NaCl, $^{1}/_{1000}$ n-NaHO . .	0,052 „	„	4′	„
$^{m}/_{20}$-NaCl, $^{1}/_{1000}$ n-HCl . . .	0,047 „	„	5′	„

Wäre die Membran in bezug auf H-Ionen reversibel, so hätte eine Potentialdifferenz von nahezu 0,5 Volt zwischen sauren und alkalischen Lösungen auftreten müssen. Wir wiederholten den Versuch mit dem Blatt der Gummipflanze.

$^{m}/_{20}$-NaCl neutral	0,029 Volt,	konstant	während	3′
$^{m}/_{20}$-NaCl, $^{m}/_{1000}$-HCl	0,028 „	„	„	4′
$^{m}/_{20}$-NaCl, $^{m}/_{1000}$-NaHO . . .	0,031 „	„	„	4′
$^{m}/_{20}$-NaCl neutral	0,030 „	„	„	3′

Die Weiterführung dieser Versuche führte nun zu einem interessanten Resultat. Bekanntlich besteht ein Antagonismus zwischen Säuren und Salzen in bezug auf Schwellvermögen und sonstige Eigenschaften der Eiweißkörper, eine Tatsache, die am eingehendsten von Pauli[1]) und von Procter[2]) untersucht worden ist. Dieser Antagonismus zeigt sich nun auch in diesen Versuchen. Um die Wirkung einer $^{m}/_{1000}$-Säurelösung auf Eiweißkörper zu hemmen, ist eine ziemlich hohe Salzlösung nötig. Wir untersuchten den Einfluß einer $^{m}/_{1000}$-HCl-Lösung auf das Potential bei niedrigeren Konzentrationen von NaCl als $^{m}/_{20}$.

---

[1]) Eine Zusammenfassung der Untersuchungen Paulis findet man bei Handovsky, Koll. Zeitschr. 8, 183 u. 267.

[2]) Procter, Koll. chem. Beihefte 2, 243.

$^m/_{100}$-NaCl neutral	0,061 Volt,	konstant während 4′
$^m/_{100}$-NaCl, $^m/_{1000}$-HCl . . .	0,052 „	nach 2′ 0,048 Volt; sinkt weiter
$^m/_{100}$-NaCl, $^m/_{1000}$-NaHO . .	0,057 „	konstant während 4′
$^m/_{100}$-NaCl neutral	0,059 „	„ „ 3′
$^m/_{100}$-NaCl, $^m/_{1000}$-HCl . . .	0,034 „	nach 3′ 0,029 Volt; nach weiteren 4′ 0,028 „
$^m/_{100}$-NaCl neutral	0,043 Volt.	

Hier hat also die Säure so gewirkt, als ob sie die Oberfläche modifiziert und für Anionen durchgängiger[1]) gemacht habe. Das wird noch deutlicher, wenn man noch schwächere Salzlösungen anwendet.

$^m/_{500}$-NaCl + $^m/_{1000}$-NaCl neutral .	0,076	Volt,	konst. während 3′
$^m/_{500}$-NaCl + $^m/_{1000}$-HCl sauer . .	0,043	„	
	0,030	„	nach 4′
	0,027	„	nach weiteren 3′; sinkt weiter
$^m/_{500}$-NaCl + $^m/_{1000}$-NaCl neutral .	0,068	„	konst. während 3′

Hier hat also die Säure die spezifische Anionen- resp. Salzdurchlässigkeit noch mehr erhöht als in den früheren Versuchen. Noch deutlicher wird das, wenn wir reine Säure mit reinem Salz vergleichen.

$^m/_{1000}$-NaCl neutral	0,088	Volt	
$^m/_{1000}$-HCl	0,060	„	
	0,038	„	nach 6′; sinkt weiter.

Alle diese Versuche sind am Blatte der Gummipflanze gemacht. Wir dürfen uns also wohl vorstellen, daß die Säure die Eiweißkörper in der Oberfläche des Blattes modifiziert und damit die Durchgängigkeit dieser Oberfläche für Salze erhöht. Ist aber genug Salz zugegen, so hemmt das diese Modifikation der Eiweißkörper durch Säure und in dem Falle benimmt sich die Säure wie jeder andere indifferente Elektrolyt.

Es stimmt mit dem Gesagten überein, daß niedrige Konzentrationen von Alkali viel schwächer wirken als Säure. Der Sinn der Wirkung ist anscheinend entgegengesetzt wie der von Säure.

---

[1]) Da Durchlässigkeit für Kationen schon besteht, bedeutet größere Anionendurchlässigkeit hier dasselbe wie größere Salzdurchlässigkeit.

m/250-NaCl	0,055 Volt
m/250-NaHO	0,066 „
m/250-NaCl	0,055 „
m/250-NaHO	0,062 „

m/50-NaHO	0,027 Volt
m/50-NaCl	0,022 „

Alle diese Versuche weisen darauf hin, daß die von uns benutzten Membranen in bezug auf H-Ionen nicht reversibel sind. Wir können im Zusammenhang mit den Beobachtungen über die Wirkung der Säure auf eine Erfahrung zurückkommen, welche wir schon an einer früheren Stelle dieser Arbeit mitgeteilt haben; nämlich daß auch Neutralsalze, wenn ihre Konzentration zu hoch ist, die Membran verändern. Das zeigt sich erstens darin, daß nach der Behandlung der Oberfläche mit einer konzentrierten Neutralsalzlösung die verdünnten Lösungen nicht mehr die alten EMKe geben und zweitens darin, daß bei hohen Salzkonzentrationen die EMKe zu klein ausfallen. Das weist also auf eine erhöhte Salzdurchlässigkeit hin. Hohe Konzentrationen von Neutralsalzen modifizieren also die Oberfläche ebenfalls, nur ist eine viel höhere Konzentration der Neutralsalze erforderlich als im Falle von HCl.

Der Umstand, daß die EMK einer m/20-NaCl-Lösung nicht geändert werden, wenn wir sie nacheinander neutral, sauer m/1000-HCl und alkalisch m/1000-NaHO machen, schließt wohl den Gedanken aus, daß Adsorptionserscheinungen im Spiele sind.

Eine spezifische Wirkung der $H^{\cdot}$ resp. OH' im Sinne der Nernstschen Gleichung besteht nach dem Erwähnten zwar nicht, bei Abwesenheit aller anderen Elektrolyte wirkt indes Konzentrationsänderung von HCl ebenso wie die von NaCl oder KCl. Die HCl-Konzentration darf hierbei jedoch nicht über m/1000 gesteigert werden, da höhere Konzentration die Oberfläche zu stark angreift und die Reversibilität aufhebt. Es wurde z. B. am Apfel gemessen bei

		Differenz beobachtet	Differenz berechnet
n/10000-HCl	0,126 Volt	0,061 Volt	0,058 Volt
n/1000 „	0,065 „		

NaOH wirkt im gleichen Sinne

n/250-NaOH	0,062 Volt	0,035 Volt	0,040 Volt
n/50- „	0,027 „		

VII. Versuche an tierischen Objekten.

Alle bisher besprochenen Versuche waren an pflanzlichen Objekten angestellt worden. Wir stellten noch einige Versuche an tierischen Objekten an. Zunächst verglichen wir die Änderung der EMK bei der Änderung der Konzentration der Zuleitungsflüssigkeit an den Fingerspitzen lebender Personen, dem Nagel und der Kuppe der Finger. Der Daumen einer Hand wurde in eine Flüssigkeit getaucht, die während des Versuches nicht gewechselt wurde, während die Zuleitungsflüssigkeit auf dem Nagel des Zeigefingers derselben Hand variiert wurde.

Änderung der Konzentration an der Oberfläche des Fingernagels.

Konzentration der NaCl-Lösung	EMK	Differenz
$^{10}/_8$ mol. NaCl	— 0,023 Volt 5′ konst.	
		0,017 Volt
$^1/_8$ „ „	— 0,006 „ 4′ „	
		0,035 „
$^1/_{80}$ „ „	0,029 „ 6′ „	
		0,029 „
$^1/_{800}$ „ „	0,058 „	

Wie im allgemeinen wird die Oberfläche mit abnehmender Konzentration der Salzlösung positiver, und bei nicht zu hoher Konzentration entspricht dem gleichen Verdünnungsgrad auch angenähert die gleiche Potentialdifferenz 0,035 Volt zwischen $^1/_8$ m- und $^1/_{80}$ m-NaCl und 0,029 Volt zwischen $^1/_{80}$ und $^1/_{800}$ m-NaCl. Wir hatten diesen Versuch hauptsächlich unternommen, um zu entscheiden, ob bei Pflanzenmembranen die Harzbestandteile die wasserunlösliche Phase bilden. Beim Nagel handelt es sich aber wohl um Keratin, d. h. Eiweißkörper.

Der folgende Versuch ist an den Fingerspitzen mit Ausschluß der Nägel gemacht.

Änderung der Konzentration an der Oberfläche der Fingerspitze ohne Nagel.

Konzentration der NaCl-Lösung	EMK
$^{10}/_8$ mol.	— 0,036 bis 0,028 Volt
$^1/_8$ „	— 0,031 „ 0,025 „
$^1/_{80}$ „	0,011 „ 0,015 „
$^1/_{800}$ „	0,028 „ 0,051 „
$^1/_{8000}$ „	0,056 „ 0,071 „

Man sieht, daß die EMKe nicht konstant sind, und daß bei den Konzentrationen über $^1/_{800}$ mol. die Differenzen sehr klein sind. Wir haben es also bei der menschlichen Haut mit einer leicht veränderlichen Membran zu tun, die für die Ermittelung der logarithmischen Abhängigkeit der EMK von der Konzentration schon kein gutes Objekt mehr ist. Noch schlagender wird dieses Verhalten in dem folgenden Versuch an der Froschhaut.

1. Versuch am Frosch.

Kette: $^1/_8$ Ringerlösung | Frosch | Ringerlösung wechselnder Konzentration
verletzt unverletzt

Konzentration der Ringerlösung an der nicht gehäuteten Oberfläche	EMK	
$^1/_8$ mol.	0,020 bis 0,031 Volt	
$^1/_{80}$ „	0,031 „ 0,046 „	Rechte Seite d. obig. Kette
$^1/_{800}$ „	0,024 „ 0,022 „	—
$^1/_{8000}$ „	0,022 „ 0,016 „	Rechts +
$^1/_{800}$ „	0,022 „ 0,026 „	
$^1/_{80}$ „	0,049 „ 0,048 „	Rechts —
$^1/_8$ „	0,038 „ 0,043 „	
$^1/_{8000}$ „	0,012 Volt	Rechts +

Die EMKe waren starken zeitlichen Schwankungen unterworfen und die Werte sind auch durchaus nicht reversibel. Es läßt sich indes das qualitative Resultat daraus entnehmen, daß von $^1/_{80}$ bis $^1/_{8000}$ mol. ein Positiverwerden mit wachsender Verdünnung eintritt, etwa von der gleichen Größe wie bei den pflanzlichen Objekten, von $^1/_8$ bis $^1/_{80}$ dagegen tritt ein Negativerwerden (von 0,01 Volt pro Zehnerpotenz) ein, dieses Resultat wurde bei Wiederholung bestätigt.

VIII. Versuche an verletzten Oberflächen.

In allen bisherigen Versuchen hatten wir uns nur mit dem Einfluß der Änderung der Konzentration auf die Potentialunterschiede an der unversehrten Oberfläche beschäftigt. Wir wollen nun kurz zeigen, daß der Einfluß der Konzentration sich auch an der verletzten Oberfläche nachweisen läßt; er ist kleiner als an der unverletzten Oberfläche. Wir wollen das

in einer Versuchsreihe an einem Apfel illustrieren. An einer Seite des Apfels war wie gewöhnlich ein Loch in den Apfel gemacht, das mit $^m/_{10}$-KCl gefüllt wurde, in welches eine Kalomelelektrode mit $^m/_{10}$-KCl eintauchte. Die andere Seite des Apfels tauchte in KCl-Lösungen, deren Konzentrationen nach Potenzen von 10 variierte. Zuerst wurde der Einfluß der Konzentration auf die äußere Cuticula des Apfels wie in allen bisherigen Versuchen gemessen; dann wurde die Cuticula entfernt, wobei so wenig als möglich von der reinen Masse des Apfels mit weggeschnitten wurde, und dann wurde der Einfluß der Konzentration auf diese Oberfläche gemessen. Wir stellen die Werte für dieselben Konzentrationen nebeneinander.

Unverletzte Oberfläche			Verletzte Oberfläche
	$^m/_{10000}$-KCl	0′	0,035 Volt
		13′	0,043 „
		22′	0,047 „
0,119 Volt	$^m/_{1000}$-KCl	0′	0,024 „
0,122 „		10′	00,29 „
		16′	0,030 „
0,065 „	$^m/_{100}$-KCl	0′	0,008 „
0,070 „		11′	0,006 „
0,020 „	$^m/_{10}$-KCl	0′	— 0,008 „
0,023 „		17′	— 0,014 „
0,007 „	m-KCl		— 0,020 „
0,008 „			— 0,020 „

Der Unterschied im Verhalten beider Reihen wird am besten erkannt, wenn man die Differenzen der Wirkung zweier aufeinanderfolgenden Konzentrationen vergleicht.

Verletzt	Konzentrationsintervall	Unverletzt
0,017 Volt	$^m/_{10000}$ bis $^m/_{1000}$	
0,024 „	$^m/_{1000}$ „ $^m/_{100}$	0,052 Volt
0,020 „	$^m/_{100}$ „ $^m/_{10}$	0,047 „
0,006 „	$^m/_{10}$ „ $^m/_{1}$	0,018 „

Die beiden Werte 0,052 und 0,047 Volt stimmen mit den früher von uns gefundenen Werten überein und weichen nicht zu sehr von dem theoretisch berechneten Wert 0,058 Volt ab, die Werte für die verletzte Oberfläche, 0,024 und 0,020 Volt, sind

weniger als halb so groß. Auch an der verletzten Oberfläche wird das Potential positiver mit zunehmender Verdünnung. Die verletzte Haut des Apfels verhält sich also zu der unverletzten, wie etwa die unverletze menschliche Haut zu der unverletzten Haut des Apfels.

Wir geben noch ein zweites Beispiel, an das wir einige Bemerkungen über die Reversibilität dieser Erscheinungen knüpfen wollen. In diesen Versuchen war die Flüssigkeit *b* ($^m/_{10}$-KCl), die während der Beobachtungen nicht variiert wurde, nicht in ein in den Apfel geschnittenes Loch gebracht worden, sondern wir befestigten einen Glasring mittels Paraffin auf der unverletzten Haut des Apfels und füllten den Zylinder mit $^n/_{10}$-KCl, in welche die eine Kalomelelektrode mit $^n/_{10}$-KCl tauchte.

Zuerst wurde eine Versuchsreihe am unverletzten und dann an demselben geschälten Apfel durchgeführt. Wir stellen die Werte wieder gegenüber.

Unverletzter Apfel	Konzentration	Verletzte Oberfläche
0,175 Volt	$^m/_{10\,000}$-NaCl	0,056 Volt
0,146 „	$^m/_{1000}$- „	0,036 „
0,086 „	$^m/_{100}$- „	0,000 „
0,023 „	$^m/_{10}$- „	—0,022 „

Die Differenzen sind wieder erheblich kleiner beim geschälten als beim ungeschälten Apfel, aber sonst ziemlich regelmäßig. Es bestehen aber zwei Unterschiede, die in dieser Tabelle nicht zutage kommen. Während die konstante Einstellung beim unverletzten Apfel sehr rasch eintritt, tritt dieselbe beim verletzten Apfel langsamer ein. Ein zweiter Unterschied besteht in bezug auf die Konzentrationsgrenze, über welcher der Apfel geschädigt wird, d. h. seine Reversibilität teilweise verliert. Wir haben schon erwähnt, daß der unverletzte Apfel oder das Blatt, wenn sie mit Lösungen behandelt werden, deren Konzentration höher ist als $^m/_{10}$-KCl, wenn sie nachher mit Lösungen von niedriger Konzentration in Berührung kommen, nicht wieder dieselbe Potentialdifferenz zeigen, die vorher beobachtet worden war. Für den geschälten Apfel scheint schon eine $^m/_{100}$-KCl-Lösung die obere Grenze zu sein, bei der diese Irreversibilität eintritt. Allmählich aber erholt sich auch die verletzte Schicht des Apfels wieder.

Wir wollen einige Beispiele für das Gesagte geben, zunächst ein Beispiel für die Tatsache, daß der Potentialunterschied an der verletzten Stelle oft erst nach einiger Zeit konstant wird. Es ist beachtenswert, daß das nicht für alle Konzentrationen der Zuleitungsflüssigkeit gilt, sondern nur für sehr verdünnte Lösungen.

Enthäuteter Apfel.

Konzentration	Zeit	Potentialunterschied
$^m/_{10000}$-NaCl	12:15	0,044 Volt
	12:17	0,050 „
	12:20	0,055 „
	12:24	0,056 „
$^m/_{1000}$-NaCl	12:27	0,026 „
	12:37	0,033 „
	12:46	0,036 „
$^m/_{100}$-NaCl	12:48	0,000 „
	12:52	0,000 „
	12:53	0,000 „
$^m/_{10}$-NaCl	12:55	—0,018 „
	12:57	—0,019 „
	12:59	—0,021 „
	1:01	—0,022 „

Nach dieser Versuchsreihe wurden die Bestimmungen wiederholt, aber in der umgekehrten Reihenfolge.

Konzentration	Zeit	Potentialunterschied
$^m/_{100}$-NaCl	1:03	+0,016 Volt
	1:06	0,015 „
	1:08	0,013 „
$^m/_{1000}$- „	1:10	0,006 „
	1:45	0,030 „

Vergleicht man den letzten Wert für $^m/_{100}$-NaCl mit dem vorher erhaltenen, so besteht eine Differenz von etwa 0,016 Volt. Aber um 1:45 ist die Membran wieder normal geworden und der Wert für $^m/_{1000}$-NaCl 0,030 ist fast identisch mit den um 12:46 gefundenen, nämlich 0,036 Volt. Daß diese Annahme richtig ist, zeigte eine neue Bestimmung für $^m/_{100}$-NaCl:

Konzentration	Zeit	Potentialunterschied
$^m/_{100}$-NaCl	2:10	0,002 Volt
	2:12	0,002 „

was ja ungefähr der ursprüngliche Wert war.

Man erhält solche Nachwirkungen auch an der unversehrten Membran des Apfels, aber nur, wenn man, wie gesagt, höhere Konzentrationen von Salzen etwa $^m/_1$-NaCl oder $^m/_1$-KCl anwendet.

Es ist sehr wohl möglich, daß diese Nachwirkungen bei Organen wie der Muskel sich störend bemerkbar machen.

Die verschiedene Veränderlichkeit des Potentials an der verletzten und unverletzten Stelle könnte den Gedanken nahe legen, die hier beschriebenen Erscheinungen zu einer Theorie des Ruhestromes zu verwerten. Das ist aber kaum berechtigt, wie folgendes Experiment zeigt. Es wurde die EMK der Anordnung

Kalomelelektrode | $^m/_1$-NaCl | Apfel | $^m/_1$-NaCl | Kalomelelektrode
+ intakt verletzt —

in der angegebenen Richtung zu 0,01 Volt bestimmt. Selbst unter der Annahme, daß die verletzte Fläche gar nicht polarisierbar ist, erscheint dieser Befund nicht mit dem Schluß vereinbar, daß alle vorhandenen Potentiale von derselben Natur wie die von uns untersuchten sind, und daß keine inneren, sich unabhängig summierenden Potentiale vorhanden sind. Denn alle vorhergehenden Experimente lehren, daß die verdünntere Lösung immer positiver ist, folglich müßte auch die Ableitungsflüssigkeit auf der linken Seite obiger Kette verdünnter sein als die Zellflüssigkeit des Apfels, d. h. die Konzentration der Elektrolyte des Apfelsaftes müßte mehr als grammolekular sein, was ganz unmöglich ist. Der Umstand, daß die verletzte Stelle ebenfalls eine gewisse Polarisation zeigt, macht einen solchen Erklärungsversuch noch schwieriger. Man sieht also, daß die von uns gefundenen Tatsachen die Erklärung des Ruhestromes nur mit Hilfe von weiteren Annahmen zulassen, deren Besprechung uns zwecklos erscheint.

Was die physikalisch-chemische Seite betrifft, so ist es bemerkenswert, daß alle bis jetzt bekannten Phasengrenzen nur in bezug auf ein einziges Ion reversibel sind, während die von uns untersuchten Objekte für sehr verschiedene Kationen reversibel sind. Entweder enthalten die Oberflächenlamellen alle diese Metalle spurenweise, oder es tritt ein Umtausch zwischen den in der Oberflächenlamelle enthaltenen Kationen und den in der Lösung befindlichen ein.

Zusammenfassung der Resultate.

1. Es wird gezeigt, daß bei Änderung der Konzentration der Lösung eines Elektrolyten an der unversehrten Oberfläche verschiedener pflanzlicher und tierischer Organe die EMK sich in dem Sinne ändert, daß diese Seite mit abnehmender Konzentration positiver wird.

2. Es wird ferner gezeigt, daß die Abhängigkeit der Potentialdifferenz von der Änderung der Konzentration der Nernstschen Formel entspricht. Die wirklich gefundene Potentialdifferenz ist immer ein wenig kleiner als die nach der Nernstschen Formel unter der Voraussetzung berechnete, daß die Membran in bezug auf Kationen reversibel (durchgängig) ist.

3. Aus beiden vorausgehenden Tatsachen wird geschlossen, daß sich die von uns untersuchten intakten Membranen ähnlich wie Metalle verhalten, nur mit dem Unterschied, daß die Durchgängigkeit für Anionen keine absolute ist.

4. Wählt man die Konzentrationen der Salzlösungen zu hoch, so bewirken dieselben Änderungen in der Membran in dem Sinne, als ob dieselbe für Anionen durchgängiger geworden wäre.

5. Bei passender Wahl der Konzentration der Salzlösung (z. B. $^{m}/_{20}$-NaCl) bleibt die Potentialdifferenz die gleiche, wenn die Lösung neutral oder durch Zusatz von HCl $^{m}/_{1000}$ sauer oder durch Zusatz von NaHO $^{m}/_{1000}$ alkalisch gemacht ist. Das zeigt, daß es sich hier nicht um Ketten handelt, die in bezug auf H-Ionen reversibel sind.

6. Konzentrationsänderungen der Zuleitungsflüssigkeit, welche durch Zusatz von Nichtleitern wie Rohrzucker, Harnstoff und Glycerin hervorgebracht sind, haben keinen Einfluß auf die Potentialdifferenz.

7. Es zeigt sich, daß die hier mitgeteilten Gesetze allgemein für intakte Oberflächen gelten, da schon frühere Beobachter angeben, daß bei Ableitung mit destilliertem Wasser von der unverletzten Oberfläche die letztere positiver wird. Dagegen zeigen verschiedene Membranen erhebliche Unterschiede in bezug auf die Wirkung derselben Konzentrationsänderung auf das Potential. Während dieselbe an der intakten Oberfläche von gewissen pflanzlichen Objekten sich dem Maximum nähert, ist sie schon bei der menschlichen Haut erheblich geringer.

8. Entfernt man die Oberflächenlamelle eines Apfels, so gelten die erwähnten Tatsachen ebenfalls, nur mit dem Unterschied, daß die für eine 5fache Verdünnung gefundenen Differenzen der EMK kleiner sind als die an der intakten Oberfläche gefundenen.

9. Die hier mitgeteilte Tatsache, daß Änderung der Konzentration der Salze von Li, Na, K, Mg, Ca, Ba an der unverletzten Membran in gleicher Weise die EMK ändert, widerspricht der Annahme von Bernstein und Hoeber, daß der Ruhestrom durch Diffusion der Salze nur eines Kations (beim Muskel K) entsteht.

10. Der Umstand, daß die von uns untersuchten unversehrten Oberflächenlamellen nicht nur in bezug auf ein Kation, sondern auf beliebig viele reversibel sind, unterscheidet dieselben von allen bisher untersuchten wasserunlöslichen Stoffen, wie Metallen, und den von Haber und Beutner und Haber und Klemensiewicz untersuchten festen Phasen, die immer nur in bezug auf ein einziges Ion reversibel waren.

Die Wirkungen eiweißfällender Kolloidlösungen auf warmblütige Tiere und ihre Beziehungen zu anaphylaktischen Prozessen[1].

Von

R. Doerr und J. Moldovan.

(Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitees in Wien.)

(*Eingegangen am 16. März 1912.*)

I.

Durch die intravenöse Einspritzung solcher Immunsera, deren Antikörper gegen das Eiweiß oder die Zellen des injizierten Tieres gerichtet sind, kann man akute Krankheitssymptome und chokartigen Exitus hervorrufen; so sind z. B. Meerschweinchenpräcipitine und Meerschweinchenhämolysine vom Kaninchen für Meerschweinchen hochpathogen und töten bei entsprechender Dosierung und direkter Einbringung in das Venenblut innerhalb weniger Minuten. Diese Phänomene waren zum Teil schon lange bekannt, wurden aber zuerst von uns als anaphylaktische Vorgänge gedeutet. Wir stützten uns dabei vornehmlich auf die Tatsache, daß die Wirkung solcher Antisera ebenso wie die echte Anaphylaxie auf einer in vivo ablaufenden Reaktion zwischen Eiweißantigenen und ihren Antikörpern beruhen müsse; als weitere Argumente kamen in Betracht, daß die beobachteten Erscheinungen am lebenden und verendeten Tiere anaphylaxieähnlich waren, daß Atropinsulfat einen antagonistischen Einfluß hatte und daß nach dem Überstehen einer Antiserumvergiftung eine deutlich erhöhte Resistenz gegen eine Wiederholung des Eingriffes im Sinne einer Antianaphylaxie resultierte (Doerr und Moldovan, Uhlenhuth und Haendel). Subcutan injiziertes inaktives Meerschweinchenhämolysin erzeugte bei Meerschweinchen Hautnekrosen als Analoga der von Arthus beschriebenen lokalen Anaphylaxie.

[1]) Diese Untersuchungen wurden mit den Mitteln der Trenkle-Stiftung pro 1911 ausgeführt.

Den Mechanismus des Vorganges erklärten wir in Anlehnung an Friedberger so, daß der injizierte Antikörper im Eiweiß oder in den Zellen des injizierten Tieres ein passendes Antigen vorfindet und unter Intervention von Komplement zur Bildung von Anaphylatoxin Veranlassung gibt. Unter „Anaphylatoxin" verstanden wir konform der bis in die jüngste Zeit herrschenden Auffassung ein hypothetisches einheitliches Gift, welches die Ursache aller anaphylaktischen Prozesse bilden und aus der Reaktion von Antigen, Amboceptor und Komplement hervorgehen soll. Hierfür schien auch die Beobachtung zu sprechen, daß Meerschweinchen, die infolge einer Injektion von Meerschweinchen-Präcipitin oder -Hämolysin verendeten, einen hochgradigen Komplementschwund aufwiesen; es war uns aber bereits damals aufgefallen, daß dies durchaus nicht immer der Fall ist. Gerade diese Ausnahmen präsentieren sich uns heute in einem anderen Lichte und gewinnen eine Bedeutung, die uns veranlaßt, darauf in Kürze zurückzukommen.

Versuch.

Kaninchen Nr. 430 erhielt am 24., 28. II. und 3. III. je 2 ccm 5mal gewaschene Erythrocyten vom Meerschweinchen endovenös. Am 10. III. erfolgte der Aderlaß.

Das Serum wurde zur Hälfte in nativem Zustande belassen, die andere Hälfte durch $^1/_2{}^h$ auf 56° erwärmt. Das native Serum löste Meerschweinchenerythrocyten in vitro erst in hohen Dosen, gab aber noch in sehr kleinen Mengen Hämagglutination. Bei der inaktivierten Probe war eine Reaktivierung der lytischen Funktion mit 0,05 Meerschweinchenkomplement unmöglich, wohl aber mit 0,3 frischen Kaninchenserums. Darüber gibt folgende Tabelle Aufschluß:

Hämolytische und hämagglutinierende Fähigkeiten von Serum 430:

	a) aktiv	b) inaktiv + 0,05 Meerschw.-Kompl.	c) inaktiv + 0,3 Kanin.-Kompl.
0,5	+++	kompl. Aggl.	+++
0,3	++	„	+++
0,1	+	„	+++
0,08	kompl. Aggl.	„	+++
0,05	„	„	+++
0,03	„	„	+++
0,01	„	„	+++
0,008	„	„	+++
0,005	„	„	+++
0,003	„	„	+++
0,001	∅ [1]	∅	++
0,0008	∅	∅	+

[1] bedeutet: negatives Resultat.

Bei der Prüfung der Toxizität ergaben sich zwischen nativem und inaktiviertem Serum keine wesentlichen Unterschiede in der Giftigkeit; wohl aber blieb nach aktivem Serum jeder Komplementschwund aus, während er nach inaktiviertem die höchsten Grade erreichte:

M. I erhält 1,0 natives Serum 430 i. v. nach 5′ schwerste Symptome, nach 8′ agonal, entblutet.

M. II erhält 0,5 natives Serum 430 i. v. + nach 5′.

M. III erhält 1,0 inaktives Serum 430 i. v. + nach 7′.

Komplementtitration.

	I.		II.		III.	
	vor	nach	vor	nach	vor	nach
			der Injektion.			
0,5	—	+++	—	+++	—	∅
0,3	—	+++	—	+++	—	∅
0,1	+++	+++	+++	+++	+++	∅
0,08	+++	+++	+++	+++	+++	∅
0,05	+++	+++	+++	+++	+++	∅
0,03	+++	+++	+++	+++	+++	∅
0,01	+++	++	+++	++	+++	∅
0,008	+	+	∅	∅	++	∅

Die Tatsache, daß nur das inaktive Hämolysin Komplementverarmung hervorrief, das native nicht, suchten wir durch die Annahme zu erklären, daß das in letzterem vorhandene Kaninchenkomplement zum homologen Amboceptor eine höhere Avidität hat und auch ausreicht, um die Giftbildung zu gestatten; dadurch sei ein Verbrauch von Meerschweinchenkomplement einerseits unmöglich, andrerseits auch überflüssig. Diese Folgerung dürfte aber kaum das Richtige treffen. Der Komplementschwund war bei dem Tiere III, das 1,0 inaktives Serum in vitro erhalten hatte und in 7′ verendet war, ein totaler; Meerschw. I und II waren nach 1,0 resp. 0,5 ccm nativen Serums in 8 resp. 5′ eingegangen und ihr Komplement war gänzlich intakt geblieben, trotzdem der vitro-Versuch lehrt, daß selbst große Mengen nativen Serums nur Spuren von Kaninchenkomplement enthielten. Es ist viel wahrscheinlicher anzunehmen, daß jener Stoff, den wir Komplement nennen, bei dem Zustandekommen der Symptome nicht die essentielle Rolle spielt, die ihm Friedberger, Friedemann und Doerr (in seinen früheren Arbeiten) vindizieren, und daß die konstatierte Differenz zwischen nativem und inaktiviertem Hämolysin nicht auf der Ausschaltung des ohnehin minimalen Komplementgehaltes, sondern auf anderen durch das Erwärmen bedingten Veränderungen beruht.

Ferner seien noch einige neuere Experimente über die Wirkung von Meerschweinchenpräzipitinen und Hämolysinen auf Meerschweinchen angeführt, da sie unsere früheren Mitteilungen ergänzen und die Basis für die Betrachtung unseres eigentlichen Themas, die Giftwirkung eiweißfällender Kolloide, bilden.

Versuch 1.

Kaninchen Nr. 350 bekam am 13., 15. und 20. X. 1910 je 2,0 erythrocytenfreies Meerschweinchenserum intravenös.

Am 28. X. erfolgte der

1. Aderlaß.

Präcipitine: bis 1:3200 nach 2^h schwache Trübungen, nach 6^h feinste Flocken.

Toxizität: Meerschw. 800. 2,4 ccm i. v. verzögerte schwere Symptome, + 6′ Lungenblähung, kein Ödem, zahlreiche Petechien der Pleura, keine Gerinnsel im Herzen.

Meerschw. 801. 1,8 etwas Dyspnoe, sonst ∅[1]).

Am 29. X. bekam Kaninchen 350 abermals 1,0 Meerschw.-Serum intravenös. Am 8. XI. erfolgte der

2. Aderlaß.

Präcipitine (nach 2^h): 1:3200 +++, 1:6400 ++, 1:25,600 Trübung.

Toxizität: Meerschw. 802. 2,0 i. v. + 3′ starke Lungenblähung, Lungen hellrot, nicht ödematös.

Meerschw. 803. 1,5 i. v. + 6′ keine Lungenblähung, geht unter relativ schwachen S. ein.

Meerschw. 804. 1,0 i. v. Dyspnoe, fällt erst nach 3^h um und verendet nach 4^h.

Zwischen der Wirkung dieses Serums und der Intoxikation mit Wittepepton bestand ein deutlicher Antagonismus:

Versuch 2.

Eine Peptonlösung wirkte auf normale Meerschweinchen wie folgt:

Meerschw.	805	2,0	Peptonl.	i. v.	+ 5′	typisch anaphylaktische Befunde
„	806	1,0	„	„	+ 5′	
„	807	0,5	„	„	+ 5′	
„	808	0,5	„	„	+ 5′	
„	809	0,25	„	„	Überlebt.	

Meerschw. 809 bekam nach 6^h neuerlich 0,6 ccm i. v. und Überlebt.

Meerschw. 810 erhielt 1,0 S. 350 vom 8. XI., nach 6^h 1,0 Peptonl. i. v. + 2′ dunkel gerötete, fleckige Lunge, stark gebläht, nicht ödematös.

Meerschw. 811 erhielt 0,7 S. 350 vom 8. XI., nach 6^h 0,6 Peptonl. i. v. Überlebt ohne Symptome.

---

[1]) = keine Erscheinungen.

Versuch 3.

Eine andere Peptonlösung tötete erst in Mengen von 3,0 ccm i. v. akut nach 5′ (Meerschw. 812) mit typisch anaphylaktischem Befund. Meerschw. 813 erhält nun 2,0 dieser Peptonlösung i. v., hatte deutliche Symptome, lag somnolent auf der Seite und erholte sich. Nach 6^h werden 2,0 ccm Ser. 350 (8. XI.) i. v. eingespritzt, das Tier zeigt keine unmittelbaren Erscheinungen, geht erst nach 1 Stunde ein und hat blasse, völlig kollabierte Lungen.

Meerschw. 814. 2,5 ccm Peptonlösung i. v., darauf schwerster Chock, erholt sich. Nach 6^h 2,0 Ser. 350 i. v., keine Symptome, überlebt.

Es sind also Meerschweinchen, die eine Peptonvergiftung überstanden haben, gegen Meerschweinchenpräcipitine resistent, und umgekehrt; da nun zwischen der Peptonwirkung und dem anaphylaktischem Chock ein gleiches Wechselverhältnis besteht (Biedl und Kraus), so sind diese Beobachtungen geeignet, die Deutung der Intoxikation durch Antisera als anaphylaktische Vorgänge zu unterstützen.

Von Interesse ist ferner das Verhalten des Blutes der mit Präcipitinen oder Hämolysinen getöteten Tiere, das aus folgenden Beispielen zu entnehmen ist.

Versuch 4.

Kaninchen Nr. 250 erhält am 16. und 30. XII., am 9. und 18. I. 1912 je 2,0 Meerschweinchenserum i. v. — Aderlaß am 24. I.

Präcipitine: 1:800 +++, 1:3200 +.

Toxizität: Meerschw. 860 2,0 S. 250 i. v. + 5′, stärkste Lungenblähung, Lungen blaß, nicht ödematös, vollkommene Thrombose des rechten Herzens (Sektion unmittelbar post mortem).

Meerschw. 861 1,0 S. 250 i. v. + 10′, schwächere Lungenblähung, Blut im Herzen völlig ungeronnen, bleibt in vitro lange Zeit flüssig.

Versuch 5.

Kaninchen Nr. 23 erhält am 30. XII. 1911 2,0 gewaschene Meerschweinchenerythrocyten. — Am 9. I. 1912

1. Aderlaß.

Hämolyt. Amboceptor: (mit 0,1 Kaninchenkompl.) komplett lösende Dosis minima 0,008 ccm.

Toxizität: Meerschw. 862 3,0 i. v. + 5′ hochgradig geblähte, ödematöse Lunge, im rechten Herzen wandständige Thromben, Rest des Blutes ungeronnen, bleibt in vitro lange flüssig.

Meerschw. 863 1,5 i. v. schwere Symptome, fällt um, setzt sich wieder auf, geht nach 60′ ein. Blut flüssig.

Meerschw. 864 1,0 i. v., Chock, erholt sich, überlebt.

Meerschw. 865 0,6 i. v., $\emptyset$.

Am 9. I. erhält Kan. 23 2,0 M.-E., am 18. I. 0,5 ccm. — Am 24. I.

2. Aderlaß.

Hämolyt. Amboceptor (mit 0,1 Kaninchenkompl.): komplett lösende Minimaldosis 0,001 ccm. — Mit 0,05 Meerschweinchenkompl. bis 0,005, Agglutination, keine Hämolyse.

Toxizität: Meerschw. 866 1,0 S. 23 i. v. + 1′, stärkste Lungenblähung, kein Ödem, totale Herzthrombose.

Meerschw. 867 0,4 S. 23 i. v. + 30′, Blut flüssig, bleibt in vitro durch 1 Stunde ungeronnen.

Meerschw. 868 0,16 S. 23 i. v., Chock, überlebt.

Meerschw. 869 0,1 S. 23, i. v., Chock, überlebt.

Wie man sieht, kommt es nach höheren Dosen Antiserum zu einer intravitalen Koagulation des Blutes im rechten Herzen und in den großen Gefäßen; mittlere Mengen bewirken eine partielle Gerinnung in Form von parietalen Thromben, wobei der Rest des Blutes eine ganz erheblich herabgesetzte Gerinnbarkeit erwirbt, noch kleinere Quanten reduzieren bloß die Koagulationsfähigkeit, ohne daß sich Fibrinabscheidung bei sorgfältigstem Suchen konstatieren ließe. Danach dürfte es sich in allen drei Fällen nur um verschiedene Stadien ein und desselben Prozesses handeln. Keinesfalls ist aber die Fibrinabscheidung und das durch dieselbe bedingte Zirkulationshindernis die wesentliche Todesursache, wie schon daraus erhellt, daß auch Tiere ohne Spur von Thrombenbildung, die lediglich eine herabgesetzte Blutgerinnbarkeit aufweisen, akut eingehen. Das läßt sich auch auf einem anderen Wege erweisen. Injiziert man nämlich präventiv Hirudin, so kann man die Fibrinabscheidung auch nach größeren Dosen Antiserum verhindern, ohne die Wirkung der letzteren auf das Meerschweinchen irgendwie zu beeinträchtigen.

Versuch 5.

Ein Meerschweinchenhämolysin vom Kaninchen 23 (3. Aderlaß) wirkte in Dosen von 1,0 ccm i. v. thrombosierend:

Auswertung: Meerschw. 870 1,0 ccm Ser. 23 i. v. + 2′, völlige Herzthrombose.

Meerschw. 871 0,4 ccm Ser. 23 i. v. + 30′, Blut im Herzen flüssig, ungerinnbar.

Meerschw. 872 0,2 ccm Ser. 23 i. v., schwerer Chock, überlebt.

Präventive Hirudininjektion: Meerschw. 873 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 1,0 S. 23 i. v. + 3′, hochgradig geblähte, nicht ödematöse Lungen, Blut flüssig, ungerinnbar.

Meerschw. 874 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 1,0 Ser. 23 i. v. + 6′, identischer Befund wie bei Nr. 873.

Meerschw. 875 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 0,4 Ser. 23 i. v. + 30′, keine Lungenblähung, Blut ungerinnbar.

Meerschw. 876 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 0,2 Ser. 23 i. v. + 30′, derselbe Befund wie bei Nr. 875.

Auch in diesem Verhalten prägen sich enge Beziehungen zum anaphylaktischen Chock aus, bei dem die Gerinnbarkeit des Blutes gleichfalls konstant herabgesetzt und Hirudin im antagonistischen Sinne nicht wirksam ist. Die Vergiftungen durch Antisera, die gegen das Eiweiß oder die Zellen des injizierten Tieres gerichtet sind, tragen nur insofern ein anderes Gepräge, als es bei ihnen bisweilen zu jener Gerinnungsphase kommt, bei der sich Fibrin in fester Form absondert, was beim anaphylaktischen Chock nicht beobachtet wurde; dem Gesagten zufolge können wir aber dieser Differenz eine bloß graduelle Bedeutung zuerkennen.

II.

Fassen wir nun den Spezialfall der Intoxikation von Meerschweinchen durch Meerschweinchenpräcipitine ins Auge, so ist es wohl am natürlichsten, den am Tiere beobachteten Effekt mit der vitro-Wirkung in Zusammenhang zu bringen. Die letztere besteht aber darin, daß beim Kontakt von Antiserum und Meerschweincheneiweiß das Gleichgewicht der gelösten Eiweißkolloide gestört wird, was sich makroskopisch durch einen Übergang von Globulinen aus der Sol- in die Gel-Phase (Präcipitation) markiert. Es ist nun zweifelhaft, ja nach der Kürze der Zeit, die bis zum Tode der Meerschweinchen verstreicht, unwahrscheinlich, daß im Plasma derselben Flockungen der eigenen oder injizierten Globuline nach Art des vitro-Prozesses auftreten; wohl aber muß die Injektion von Präcipitinen das Gleichgewicht der Eiweißkörper des Blutplasmas alterieren. Das geht schon aus der Verschiebung der Gerinnungsverhältnisse hervor, die sich manchmal bis zur intravaskulären Fibrinabscheidung steigert, und es liegt wohl nahe, in diese Veränderungen des Blutes das pathogene Moment, d. h. die Ursache der krankhaften Symptome zu verlegen.

Dieser Gedankengang erfährt eine Stütze durch die Beobachtung, daß alle Substanzen, die die Blutgerinnung beeinflussen, für warmblütige Tierspezies pathogen sind, bei

intravenöser Injektion chockartig wirken und beim Meerschweinchen Symptome und autoptische Befunde erzeugen, die den Vorgängen bei echter Anaphylaxie sowie bei der hier beschriebenen Vergiftung durch Antisera in weitgehender Art gleichen. Vom Wittepepton, wässerigen Organextrakten, frischem defibriniertem Blut und gewissen Schlangengiften ist das bekannt. Wir konnten ferner die Wahrnehmung machen, daß auch Hirudin, das die Koagulierbarkeit des Blutes aufhebt, bei Meerschweinchen einen akuten Exitus mit allen Kriterien anaphylaktischer Prozesse hervorzurufen vermag. Die hierzu notwendigen Dosen variieren je nach der Hirudinmarke wesentlich.

Versuch 6.

Eine Probe festen Hirudins wurde in NaCl im Verhältnis von 1:10 gelöst. 0,5 ccm der Lösung wirkten ebensowenig wie 0,3, 0,1, 0,05 auf Meerschweinchenerythrocyten lösend, auch nicht nach Hinzufügung von 0,1 ccm frischen Meerschweinchenserums.

Toxizität: Meerschw. 877 0,01 g Hirudin i. v. schwankt, taumelt, erholt sich.

Meerschw. 878 0,01 g Hirudin i. v. + 5′ unter typisch anaphylaktischen Erscheinungen, schnappenden Atemzügen. Maximale Blähung der blassen, weißen, nicht ödematösen Lunge, Blut im Herzen flüssig, bleibt in vitro ungeronnen.

Meerschw. 879 0,022 g Hirudin + 5′. Dieselben Symptome und der gleiche Obduktionsbefund wie bei Nr. 878.

Versuch 7.

Eine andere Hirudinprobe rief in der Menge von 0,1 g i. v. bei Meerschw. 880 akuten Exitus in 5′ hervor. Symptome und Befund wie bei 878 und 879 im vorigen Versuch. Das Serum des Tieres hatte vor der Injektion und nach dem Exitus denselben Komplementtiter.

Beruht nun die Giftwirkung der Meerschweinchenpräcipitine auf Meerschweinchen tatsächlich darauf, daß sie die Gleichgewichtsverhältnisse des Plasmaeiweißes verändern und dadurch dem Plasma den Charakter einer intensiven Noxe verleihen, so müßte die endovenöse Zufuhr von eiweißfällenden Kolloiden von ähnlichen Folgen begleitet sein. Diese Voraussetzung läßt sich im Experiment bis zu einer gewissen Grenze verifizieren.

Wir benutzten zuerst eine 0,7 %ige kolloidale Lösung von $Si(OH)_4$, bezogen von Merck. Sie wirkte auf Bluteiweiß und Erythrocyten des Meerschweinchens, wie folgt:

a) Erythrocyten.

1. Lyse.

α) 0,3 ccm Kieselsäurehydrosol + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Suspens. keine H.
0,2 „ „ + 1,0 „ „ „
0,1 „ „ + 1,0 „ „ „
0,05 „ „ + 1,0 „ „ „
0,03 „ „ + 1,0 „ „ „
0,01 „ „ + 1,0 „ „ „

β) 0,3 ccm Kieselsäurehydros. + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. Spur Lyse
0,2 „ „ + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. ∅
0,1 „ „ + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. ∅
0,05 „ „ + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. ∅
0,03 „ „ + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. ∅
0,01 „ „ + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. + 0,1 Meerschw. oder Kan.-Kompl. ∅

2. Agglutination.

γ) 0,02 ccm Kieselsäurehydros. + 1,0 $5^0/_0$ Meerschw.-E.-Susp. kompl. Agglut.
0,01 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,008 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,006 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,004 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,002 „ „ + 1,0 „ „ Spur Agglut.
0,001 „ „ + 1,0 „ „ ∅

b) Serum.

α) 0,15 ccm Kieselsäurehydros. + 1,0 40 fach verd. Meersch.-Ser. Flockung
0,12 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,1 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,08 „ „ + 1,0 „ „ „ „
0,04 „ „ + 1,0 „ „ „ schwach. Flock.
0,02 „ „ + 1,0 „ „ „ „ „

β) 0,08 ccm Kieselsäurehydros. + 1,0 konz. Meerschw.-Ser. stärkste Flock.
0,04 „ „ + 1,0 „ „ Flockung

Versuch 8.

Intravenöse Injektion von $0,7^0/_0$ Kieselsäurehydrosol bei Meerschweinchen von 200 g.

Meerschw. 890 1,4 ccm i. v. + 3′, typische Anaphylaxiesymptome, besonders von Seite der Atmung, maximale Blähung der blassen, nicht ödematösen Lunge, vollkommene Thrombose des rechten Herzens und der aus demselben abgehenden großen Gefäße.

Meerschw. 891 1,2 ccm i. v. + 3'. Derselbe Befund.

Meerschw. 892 1,2 ccm i. v. + 3'. Derselbe Befund; im Herzen nur schwache wandständige Thromben, Rest des Blutes flüssig, bleibt in einer Glascapillare stundenlang ungeronnen.

Meerschw. 893 1,0 ccm i. v. sofort Krämpfe, fällt um, bleibt somnolent liegen mit erhaltenen Cornealreflexen, Abgang von Urin, schnappende Atemzüge, Zyanose + nach 25'. Keine Lungenblähung; Lungen kollabiert, blaß, nicht ödematös. Blut im Herzen vollkommen flüssig, bleibt in der Glascapillare stundenlang ungeronnen.

Meerschw. 894 0,8 ccm i. v. Krämpfe, Dyspnoe, fällt um. Tod nach 1 Stunde. Blut im Herzen flüssig, in vitro ungerinnbar. Das Herz schlägt post mortem noch lange Zeit fort.

Meerschw. 895 0,7 ccm i. v. somnolent, fällt um, setzt sich wieder auf, erholt sich.

Meerschw. 896 0,7 ccm i. v. zeigt dasselbe Verhalten wie Nr. 895.

Versuch 9.

Verhalten der Temperatur nach intravenöser Injektion von Kieselsäurehydrosol (0,7%).

Die in diesem Versuch verwendeten Meerschweinchen hatten ein höheres Gewicht (350 g) als in Versuch 8; die Temperatur wurde rektal gemessen.

1. Meerschweinchen 897 erhält 1,2 ccm $Si(OH)_4$ i. v. um 10ʰ 23', zeigt schwere Symptome, fällt um, verendet um 11ʰ 4'. Blut ungerinnbar.

Temperatur:	10ʰ 23'	39,2°
	10ʰ 37'	34,8°
	11ʰ	35,0°
	11ʰ 4'	+

2. Meerschw. 898 erhält um 10ʰ 8' 1,0 ccm $Si(OH)_4$, bekommt sofort heftigste Symptome, Krämpfe, fällt um, setzt sich nach 1 Stunde wieder auf und überlebt.

Temperatur:	10ʰ 8'	38,7°
	10ʰ 15'	37,0°
	10ʰ 27'	35,5°
	10ʰ 50'	35,0°

3. Meerschw. 899 erhält um 9ʰ 36' 0,9 ccm $Si(OH)_4$, zeigt schwerste Symptome, bleibt lange Zeit somnolent liegen, setzt sich dann wieder auf, scheint aber noch immer krank zu sein. Am nächsten Morgen wird es tot aufgefunden.

Temperatur:	9ʰ 36'	39,0°
	9ʰ 41'	37,3°
	9ʰ 50'	36,1°
	10ʰ	35,0°
	10ʰ 44'	34,7°

4. Meerschw. 900 erhält 0,8 ccm $Si(OH)_4$ um 9^h 15′, zeigt leichte Symptome, taumelt, nach 8′ erholt, überlebt.

Temperatur:	9^h 15′	37,9°
	9^h 22′	37,2°
	10^h 37′	38,5°

Versuch 10.

Verhalten des Komplementes nach intravenöser Injektion von Kieselsäurehydrosol (0,7%).

1. Meerschw. 901 (400 g) erhält um 9^h 41′ 0,8 ccm Kieselsäure i. v., bekommt nach 1′ schwere Symptome, fällt um und bleibt somnolent liegen. Vor der Injektion wurde etwas Blut aus der zweiten Jugularis entzogen. Um 9^h 51′ wird versucht, neuerlich Blut aus der durchschnittenen Arteria cruralis zu gewinnen, doch fließen kaum ein paar Tropfen ab; daher wird der Thorax eröffnet und das Blut mit einer Capillare aus dem rechten Ventrikel aspiriert.

Komplementtiter,

bestimmt mit Hammelamboceptor ($2^1/_2$fach lösende Dosis) und Hammel-erythr.

	vor der Injektion	nach der Injektion
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	++
0,02	+++	++
0,01	+++	∅
0,008	+++	∅

2. Meerschw. 902 (400 g) erhält um 10^h 2′ 0,8 ccm $Si(OH)_4$. Nach 1′ leichte Symptome, Zuckungen, nach 4′ somnolent. Das Tier reagiert schwächer als das vorige und wird um 10^h 7′, da das Anschneiden der art. cruralis gleichfalls ohne Erfolg bleibt, aus dem Herzen entblutet.

Komplementtiter

	vor der Injektion	nach der Injektion
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,02	+++	+++
0,01	+++	++
0,008	+	∅

3. Meerschw. 903 (400 g) erhält um 10^h 50′ 1,4 ccm $Si(OH)_4$, sofort schwerste Symptome. Nach 4′ aus dem Herzen entblutet, da aus der durchtrennten Schenkelarterie kein Blut fließt.

	Komplementtiter	
	vor und nach der Injektion.	
	vor	nach
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,02	+++	+++
0,01	+++	++
0,008	∅	∅

4. Meerschw. 904 (450 g) erhält um 11^h 2,0 ccm $Si(OH)_4$ i. v. — schwerster Chok + 5′.

	Komplementtiter	
	vor und nach der Injektion.	
	vor	nach
0,1	+++	+++
0,08	+++	+++
0,05	+++	+++
0,03	+++	+++
0,02	+++	+++
0,01	∅	∅
0,008	∅	∅

Versuch 11.

Fehlender Antagonismus zwischen Hirudin[1]) und kolloidaler Kieselsäure.

Kontrollen: Meerschw. 905 1,4 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 1′ starke Lungenblähung, vollkommene Thrombose des rechten Herzens und der großen Gefäße.

Meerschw. 906. 0,8 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 4′ derselbe Befund.

Präventiv Hirudin:

Meerschw. 907. 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 0,8 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 2′ starke Lungenblähung, Thrombose des Herzens.

Meerschw. 908 0,01 g Hirudin i. v., nach $2^1/_2{}^h$ 1,0 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 2′ maximale Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, bleibt in der Eprouvette ungeronnen.

---

[1]) Das zu diesem Versuch verwendete Hirudin war in zugeschmolzener Glasphiole 1 Jahr lang im Laboratorium aufbewahrt worden und hatte eine dunkelgraubraune Farbe. Seine antikoagulierende und akut tötende Wirkung war wesentlich schwächer als bei den Hirudinproben in Versuch 6 und 7, die hellgelbbraune Pulver darstellten und kurz vor dem Experiment bezogen wurden. Doch waren erhebliche quantitative Differenzen der spezifischen Hirudinfunktionen auch bei frischen, gleichzeitig gelieferten und ähnlich aussehenden Trockenpräparaten nachzuweisen. Dieser Umstand ist natürlich bei allen in dieser Arbeit enthaltenen Angaben über Hirudin und seine Dosierung in Rechnung zu ziehen.

Meerschw. 909. 0,015 g Hirudin, nach $2^1/_2$ h 1,2 ccm $Si(OH)_4$ + 4′ mäßige Lungenblähung, Herzthrombose.

Meerschw. 910. 0,02 g Hirudin, nach $2^1/_2$ h 1,4 ccm $Si(OH)_4$ + 1′, keine Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, bleibt in vitro ungeronnen.

Meerschw. 911. 0,03 g Hirudin, nach $2^3/_4$ h 1,0 ccm $Si(OH)_4$, + 2′ starke Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, bleibt in vitro ungeronnen.

Die folgenden Experimente wurden mit anderen und zwar verschiedenen Proben kolloidaler Kieselsäure ausgeführt, die bei Merck frisch dargestellt worden waren. Sämtliche Fläschchen trugen zwar den Vermerk „ca. 0,7%“, verhielten sich aber hinsichtlich ihrer Toxizität bei intravenös injizierten Meerschweinchen verschieden, was uns veranlaßte, für jede Versuchsreihe frische Kontrollen einzustellen. Die Wirkung auf Meerschweinchenserum und Erythrocyten war in vitro qualitativ identisch mit den früher gegebenen Daten, insbesondere war weder mit noch ohne Meerschweinchen- oder Kaninchenkomplement ein stärkerer hämolytischer Effekt nachweisbar; hinsichtlich der präcipitierenden und hämagglutinierenden Dosis minima bestanden quantitative Unterschiede.

Versuch 12.

Antagonismus von Atropin und $Si(OH)_4$.

Kontrollen: Meerschw. 912. 1,4 Kieselsäure i. v. + 1′ stärkste Lungenblähung, vollkommene Herz- und Venenthrombose.

Meerschw. 913. 1,0 Kieselsäure i. v. + 2′, stärkste Lungenblähung, Herzthrombose.

Meerschw. 914. 0,8 Kieselsäure i. v. schwerste Symptome, Krämpfe, fällt um. + 1h. — Blut im Herzen flüssig, bleibt in der Glascapillare stundenlang ungeronnen. Herz lange post mortem fortschlagend. Keine Lungenblähung.

Versuch: Meerschw. 915. 0,012 g Atropin. sulf. in die rechte, nach 60″ 1,0 $Si(OH)_4$ in die linke Jugularis + 1′, keine Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, inkoagulabel.

Meerschw. 916. 0,015 g Atropin. sulf. in die rechte, nach 1′ 1,4 ccm $Si(OH)_4$ in die linke Jugularis + 1′. Keine Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, inkoagulabel.

Versuch 13.

Antagonismus von NaCl in hohen Dosen (Hypertonie des Blutes) und Kieselsäure.

Kontrollen: Meerschw. 917. 1,0 ccm 50% NaCl-Lösung, intravenös ∅.

Meerschw. 918. 1,0 ccm $Si(OH)_4$ i. v., nach 3′ schwere Symptome, fällt um, setzt sich nach 5′ wieder auf.

Meerschw. 919. 1,4 ccm $Si(OH)_4$ i. v., + 2′ stärkste Lungenblähung, völlige Herzthrombose.

Versuch: Meerschw. 920. 1,0 ccm 50% NaCl-Lösung in die rechte, 1,2 ccm $Si(OH)_4$ in die linke Jugularis (Intervall $^1/_2$′), nach 3′ schwerste S., fällt um, setzt sich nach 5′ wieder auf.

Meerschw. 921. 1,0 ccm 50% NaCl-Lösung in die linke, nach 2′ 1,4 ccm $Si(OH)_4$ in die rechte Jugularis, sofort schwere Symptome, Krämpfe, Dyspnoe, fällt um, verendet erst nach 1^h.

Versuch 14.

Schützt Kieselsäurevergiftung gegen den anaphylaktischen Chok und umgekehrt?

6 Meerschweinchen (922 bis 927) werden am 24. XII. 1911 intraperitoneal präpariert mit 1,0 eines Antipferdeserums von Kaninchen Nr. 76 (passive Anaphylaxie).

Kontrolle: Meerschw. 922 erhält am 25. XII. 0,2 Pferdeserum i. v. + 5′.

Meerschw. 923 erhält am 25. XII. 2,4 ccm Pferdeserum i. p., nach 3^h 0,2 Pferdeserum i. v. ∅ (Antianaphylaxie).

Versuch: Meerschw. 924. 0,7 ccm Kieselsäure, i. v., zeigt schwere Symptome, wird somnolent, fällt um, erholt sich aber bald. — Nach 3^h erhält dasselbe Tier 0,2 Pferdeserum, i. v. + 5′.

Meerschw. 925. 0,7 ccm Kieselsäure, i. v., schwere Symptome, somnolent, fällt um, erholt sich. — Nach 3^h in die andere Jugularis 0,1 ccm Pferdeserum. + 5′.

Meerschw. 926. 2,4 ccm Pferdeserum intrap., nach 3^h 1,2 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 3′, hochgradige Lungenblähung, parietale Thromben im Herzen, Rest des Blutes ungerinnbar.

Meerschw. 927. 2,4 ccm Pferdeserum intrap., nach 3^h 1,2 ccm $Si(OH)_4$ i. v. + 1′, keine Lungenblähung, komplette Herzthrombose.

Versuch 15.

Subcutane Injektion von Kieselsäure beim Meerschweinchen.

Meerschw. 928. 4,0 ccm subcutan unter die Haut über dem Processus xyphoideus. Vom Momente der Injektion persistierendes Infiltrat, nach 3 Tagen beginnende Nekrose, am 4. Tage Geschwür mit wallartig aufgeworfenen Rändern, am 7. Tage kreisrundes Ulcus mit aufgeworfenem Rande, in der Mitte gelber, nekrotischer Pfropf, am 9. Tage Sequester abgestoßen, Geschwür in Reinigung. Heilt mit strahliger Narbe.

Meerschw. 929. 3,0 ccm subcutan. Derselbe Verlauf.

Meerschw. 930. 2,0 ccm subcutan. — Persistierendes Infiltrat; das Tier geht nach 48^h an einer interkurrenten Krankheit ein, zeigt bei der Obduktion ein fibrinöses Exsudat im Unterhautzellgewebe.

Meerschw. 931. 1,0 ccm subcutan. Resorbiert nach 2^h. Bleibt glatt.

Meerschw. 932. 0,5 ccm subcutan. Resorbiert nach 1^h. Bleibt glatt.

Meerschw. 933. 0,1 ccm subcutan. Resorbiert nach 1^h. Bleibt glatt.

Versuch 16.

Intracutane Injektion (nach Analogie der Intradermoreaktion).

Mehrere Meerschweinchen erhalten je 0,1 ccm einer 0,7%igen Kieselsäurelösung in die von Haaren befreite Brusthaut. Es bilden sich linsengroße Quaddeln oder Papeln, die sich erst nach 10 Tagen etwas verkleinern und nach 17 Tagen fast völlig schwinden.

Versuch 17.

Intraperitoneale Injektion.

Meerschw. 938. 5,0 ccm intrap. wird somnolent, geht nach 12^h ein und zeigt eine trockene, fibrinöse Peritonitis.

Versuch 18.

Wirkung intravenöser Injektionen auf Kaninchen.

Kan. 20	erhält 2,0 ccm	0,7%ige Kieselsäure	i. v. ∅	Überleben
„ 21	„ 4,0 „	„ „	„ ∅	Überleben
„ 22	„ 5,5 „	„ „	„ ∅	Überleben
„ 23	„ 10,0 „	„ „	„ etwas Dyspnoe, sonst ∅, geht nach 24^h ein mit negativem Obduktionsbefund.	

Die Kaninchen wogen sämtlich nur 700 bis 800 g.

Versuch 19.

Wirkung von Nucleinsäure auf Meerschweinchen.

1,0 g Nucleinsäure wird in 50 ccm Aq. dest. + 0,15 ccm konz. Lösung von Na_2CO_3 gelöst. Die Lösung wirkt auf 1,0 ccm einer 5%igen Suspension von Meerschweinchenerythrocyten selbst in Mengen von 0,04 bis 0,5 ccm weder agglutinierend noch lytisch. Dagegen vermag sie Meerschweincheneiweiß in vitro zu fällen:

a) 0,3 ccm	Nucleinlösg.	+ 1 ccm 40fach verd. Meerschw.-Serum		starke Flockung
0,2 „	„	+	do.	do.
0,15 „	„	+	do.	do.
0,12 „	„	+	do.	Flockung
0,1 „	„	+	do.	Spur, Präcipitation
0,08 „	„	+	do.	∅
0,04 „	„	+	do.	∅
b) 0,2 „	„	+ 1 ccm konz. Meerschw.-Serum		starke Flockung
0,1 „	„	+	do.	Spur, Flockung
0,08 „	„	+	do.	∅
0,04 „	„	+	do.	∅

Toxizität: Meerschw. 940. 4,5 ccm Nucleinlösung i. v. + 2′ Lungenblähung, Blut im Herzen flüssig, gerinnt in vitro erst nach 20′.

Meerschw. 941. 3,0 ccm + 3′ unter typisch anaphylaktischen Symptomen, besonders von Seite der Respiration. Obduktionsbefund wie bei Nr. 940.

Meerschw. 942. 2,6 ccm i. v. ∅, überlebt.

Meerschw. 943. 1,0 ccm i. v. ∅, überlebt.

Versuch 20.

Wirkung von Ferrum hydrooxydatum dialysatum liquidum Merck auf Meerschweinchen.

Eine Lösung von 1,0 in 9,0 Aq. dest. fällt stark Meerschweinchenserum ungefähr in denselben Grenzkonzentrationen wie 0,7 %ige kolloidale Kieselsäure (Versuch 8).

Toxizität: Meerschw. 948. 2,5 ccm Eisenoxydhydratlösung i. v. + 2′ stark geblähte, blasse, nicht ödematöse Lunge, Blut im Herzen flüssig, gerinnt in vitro erst nach 30′.

Meerschw. 949. 1,5 ccm i. v. + 2′ völlige Herzthrombose, mäßige Lungenblähung.

Meerschw. 950. 1,0 ccm i. v. sofort schwerste Symptome, Dyspnoe, fällt um, schnappende Atemzüge, scheint agonal; fängt plötzlich wieder ruhig zu atmen an, setzt sich auf, ist völlig munter und überlebt dauernd.

Meerschw. 951. 0,7 ccm i. v. ∅

Versuch 21.

Intravenöse Injektionen kolloidaler Kieselsäure bei Hunden haben Doerr und Ruß im physiologischen Laboratorium der Hochschule für Bodenkultur (Vorstand Prof. Durig) ausgeführt. Das Kieselsäurehydrosol (Merck) war als ca. 1 %ig bezeichnet.

Auf 2,5 bis 4,0 ccm pro 1 kg Körpergewicht reagierten die Hunde mit Somnolenz, wiederholtem Erbrechen, Abgang von Kot und Urin, fielen um, erholten sich aber ausnahmslos nach mehreren Stunden. Nur ein Tier, das sich im N-Gleichgewicht befand, bekam nach der Injektion von 2,5 ccm pro 1 kg abundante blutige Diarrhöen, verfiel in einen komatösen Zustand und verendete nach 16 Stunden; bei der Sektion ergab sich ein Darmbefund, der in allen Punkten dem von Weichardt und Schittenhelm beschriebenen Bilde der Enteritis anaphylactica entsprach.

Ein Hund, der während eines Kymographionversuches mehrmals und in kurzen Intervallen größere Kieselsäuredosen intravenös erhalten hatte, wurde 30 Minuten nach der letzten Injektion getötet und sein Blut in Eprouvetten aufgefangen.

Letzteres hatte die Fähigkeit, spontan zu gerinnen, völlig eingebüßt (Beobachtungsdauer 4 Tage); setzte man zu je 4 ccm des unkoagulierbaren Blutes 0,5 ccm Pferde- oder dieselbe Menge Kaninchen- resp. frisches Meerschweinchenserum, so hatte dies gleichfalls keinen Erfolg. Nach dem Vermischen von 4 ccm mit 0,5 ccm flüssigem Gansplasma trat nach 3 Stunden ein kleines, an Größe der zugefügten Menge Gansplasma entsprechendes Koagulum auf, der Rest blieb ungeronnen.

Intravenöse Injektion von Kieselsäure rief beim Hunde keine Blutdrucksenkung hervor. Dagegen stellte sich nach einer kurzen Periode vertiefter und beschleunigter Atmung ein Respirationsstillstand ein, der ca. 3 Minuten anhielt und nur von wenigen, durch Pausen getrennten Atemexkursionen unterbrochen war; nach Ablauf der genannten Zeit setzte wieder der normale Rhythmus ein. In diesem Verhalten prägt sich ein deutlicher Gegensatz zum anaphylaktischen Chok des Hundes aus, bei welchem die Blutdrucksenkung dominiert, während Symptome von seiten der Respiration meist vermißt werden (Biedl und Kraus).

In anderer Beziehung bestanden wieder Analoga zur Anaphylaxie und zur Vergiftung mit Wittepepton, indem die Injektion von Kieselsäure antagonistisch gegen eine Wiederholung des Eingriffes wirkte, also eine der Antianaphylaxie oder Peptonimmunität ähnliche Resistenz hinterließ; insbesondere blieb nach einer zweiten oder dritten Einspritzung von Kieselsäure die Respirationsstörung aus.

Es wurde auch versucht, ob die Kieselsäurevergiftung die N-Ausfuhr zu steigern vermag, da Friedemann und Isaac ähnliches bei wiederholter Zufuhr artfremder Proteine sahen und wir geneigt sind, Kieselsäurewirkung und anaphylaktische Vorgänge auf ähnliche physikalische Veränderungen des Blutes zu beziehen. Doch sind die Experimente in dieser Richtung noch nicht abgeschlossen. Ein Hund zeigte auf 2,5 ccm Kieselsäurelösung pro 1 kg Körpergewicht im Hungerzustande eine Steigerung der ausgeführten N-Menge von 2,2 auf 2,8 g; derartige Schwankungen sind aber kaum beweisend, da sie sich in physiologischer Breite bewegen. Indes ist es auch wieder bekannt, daß die Stoffwechselversuche an anaphylaktischen Hunden ebenfalls keine konstanten und gleichmäßigen, sondern

äußerst schwankende Resultate liefern, so daß erst das Ergebnis weiterer Kieselsäureexperimente abgewartet werden muß, bevor die Frage zur Entscheidung gelangen kann.

Versuch 22.

Eine Gans wurde aus der freigelegten Halsvene mit paraffinierter Kanüle aseptisch entblutet, das Blut in paraffinierten sterilen Eprouvetten aufgefangen und sofort bei niedriger Temperatur zentrifugiert. Das überstehende Plasma übertrugen wir mit Paraffinpipetten in frische paraffinierte, sterile Reagensgläser, die durch Staniolkappen gedeckt waren; es hielt sich nicht nur wochenlang flüssig, sondern hatte die Fähigkeit, aus sich heraus zu koagulieren, überhaupt verloren, selbst in Berührung mit gewöhnlichem, nicht paraffiniertem Glas.

Das auf diese Art gewonnene stabile Gansplasma konnte durch Zusatz von frischem Normalmeerschweinchenserum oder kleiner, frischer Gewebspartikel vom Meerschweinchen, Menschen oder Kaninchen in 15 bis 20 Minuten zur Koagulation gebracht werden. Für einen Kubikzentimeter Gansplasma war 0,1 bis 0,05 ccm frisches Normalmeerschweinchenserum erforderlich. Frisches Pferdeserum oder Kaninchenserum wirkten erst in 30′ bis 1^h koagulierend (0,1 bis 0,2 ccm); noch verzögerter trat die Gerinnung auf Zusatz von Normalserum (Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen) ein, welches längere Zeit im Laboratorium gestanden hatte und am langsamsten nach der Beimengung von Serumproben, die durch Erhitzen (1^h auf 56^0) inaktiviert waren.

Auf Zusatz von Kieselsäurehydrosol (0,1 bis 0,2 ccm einer $0,7^0/_0$igen Lösung) zeigte das Gansplasma (1,0 ccm) nach ca. 1 Minute eine Trübung, die sich zu einem Niederschlag verdichtete, dessen Menge von der Quantität des zugefügten Kolloids abhing. Das Plasma blieb aber ungeronnen, selbt wenn man die Beobachtungsdauer auf 24 Stunden ausdehnte.

Nun treten aber nach intravenöser Injektion von kolloidaler Kieselsäure bei Meerschweinchen und Kaninchen zuweilen intravaskuläre Thrombosen auf (siehe die vorstehenden Versuche), während es in anderen Fällen zu einer herabgesetzten Gerinnbarkeit kommt, was beim Hunde die Regel zu sein scheint. Um den ersten Effekt zu erklären, müßte man annehmen, daß sich das intravaskuläre Säugetierplasma von dem in der Eprouvette konservierbaren Gansplasma unterscheidet, oder, was wahrscheinlicher ist, daß sich in vivo außer den Eiweißkörpern des Plasmas auch Blutzellen, Erythrocyten oder Leukocyten, an dem Zustandekommen der Blutkoagulation beteiligen, indem

sie entweder durch die Kieselsäure direkt oder durch die Veränderung des Plasmas geschädigt werden, wobei Gerinnungsfermente in die Blutflüssigkeit übertreten.

Versuch 23.

Doerr und R. Pick konnten Normalmeerschweinchenserum und Normalpferdeserum in akut tödliche Gifte umwandeln, wenn sie dieselben mit fester Kieselsäure (Kaolin, Kieselguhr) behandelten (vorläufige Mitteilung siehe Wiener klin. Wochenschr. 1912, Nr. 9); nach Abzentrifugieren der Kieselsäure bewirkten die veränderten, intravenös injizierten Sera den Tod von Meerschweinchen innerhalb von wenigen Minuten unter anaphylaxieähnlichen Symptomen. Über ähnliche Resultate berichtete zur selben Zeit Bauer, nachdem schon früher Sachs und Ritz, M. Wassermann und Keysser beobachtet hatten, daß Normalmeerschweinchenserum in geringerem Grade pathogen wird, wenn man es der Adsorptionswirkung von Kaolin unter bestimmten Bedingungen unterwirft.

Landsteiner, dem wir die Ergebnisse von Doerr und R. Pick mitteilten, riet, an Stelle der festen die kolloidale Kieselsäure zu verwenden, um zu ermitteln, ob die Erzielung der Toxizität von Normalmeerschweinchenserum für die gleiche Spezies unter dem Einfluß des Kolloids nicht konstanter erfolgt als bei der Adsorption durch die unlöslichen Kieselsäurepräparate. Das war jedoch nicht der Fall. Wurden 3 ccm frisches Meerschweinchenserum mit fallenden Mengen 0,7 $^0/_0$igen Kieselsäurehydrosols versetzt und die entstandenen Präcipitate abzentrifugiert, so erwiesen sich die überstehenden Flüssigkeiten als atoxisch für intravenös injizierte Meerschweinchen. Ebenso verhielten sich die in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmten Niederschläge völlig inert; nur bei Zusatz von hohen Dosen Kieselsäure ($1^1/_2$ bis 2fach letalen Mengen) wirkten die Niederschläge, bisweilen auch die überstehenden Flüssigkeiten wie reines Kieselsäurehydrosol ohne Serumzusatz.

Durch Digerieren von Präcipitaten, die im Meerschweinchenserum durch das Kolloid erzeugt waren, mit frischem Normalmeerschweinchenserum gelang es gleichfalls nicht, das letztere für Meerschweinchen toxisch zu machen.

In der Literatur fanden wir nur wenige Angaben über die physiologischen Wirkungen eiweißfällender Kolloide. Halliburton und Pickering injizierten einem Kaninchen kolloidales Eisen intravenös (10 ccm einer 1,5 $^0/_0$igen Lösung); das Tier verendete akut, zeigte Exophthalmus, Dilatation der Pupillen und lockere Gerinnsel im Herzen, der Aorta und den großen Gefäßen. Da kolloidales Eisen die Eiweißkörper des Plasmas fällt, so halten es die Autoren für wahrscheinlich, daß die intravaskuläre Gerinnung auf diese Ursache zurückzuführen sei und schreiben dem Befunde keine weitere Bedeutung zu. Landsteiner versuchte Kaninchen durch subcutane Injektionen von kolloidaler Kieselsäure zu immunisieren und beobachtete bei dieser Gelegenheit das Auftreten subcutaner Nekrosen.

Wichtig erscheinen uns aber jene Arbeiten von Halliburton und Pickering, in welchen über die Wirkung von Kolloiden berichtet wird, welche angeblich weder mit Eiereiweiß noch Serum oder Plasma Flockungen ergaben (genauere Daten über die Mengenverhältnisse, Beobachtungsdauer fehlen). Diese Kolloide wurden durch die gegenseitige Einwirkung von meta-Amidobenzoesäure auf Phosphorpentachlorid in geschlossenen Röhren bei 125 bis 135° dargestellt und sind nach ihrem Entdecker Grimaux als intramolekulare Anhydride aufzufassen, die durch die Vereinigung mehrerer Moleküle von meta-Amidobenzoesäure unter Elimination von Wasser entstehen. Im gereinigten Zustand waren sie phosphorfrei. Sie ähnelten den Eiweißkörpern hinsichtlich ihrer physikalischen Beschaffenheit, ihrer Fähigkeit, in erhitzter Lösung zu koagulieren, und den Bedingungen, unter welchen die Hitzekoagulation eintrat, und schließlich in bezug auf mehrere charakteristische Farbreaktionen (Biuretprobe, Xanthoproteinreaktion). Intravenös injiziert riefen sie bei Hunden, Kaninchen, Katzen, Meerschweinchen und Ratten akuten Exitus hervor, in geringen Dosen temporären Atemstillstand. Meist bestand Exophthalmus und Mydriasis. Nach der Ansicht von Halliburton tritt der Tod durch die Lähmung der Atemzentren ein, was indes durch die Experimente nicht bewiesen erscheint; es geht aus denselben bloß hervor, daß das Herz nach eingetretenem Respirationsstillstand weiterschlägt, und daß die Durchtrennung beider Vagi nichts an der Giftwirkung der Kolloide ändert. Bei der unmittelbar post mortem

vorgenommenen Sektion fanden sich meist ausgedehnte intravasculäre Thrombosen, welche Herz, Aorta, Venenstämme förmlich austamponierten; zu kleine Dosen riefen bei Hunden eine „negative Phase" d. h. einen Zustand verminderter Blutgerinnbarkeit hervor.

Da die Kolloide von Grimaux in vitro weder rote noch weiße Blutkörperchen angreifen, da sie weiter auch das Gefäßendothel intakt lassen und — wie bereits erwähnt — die Eiweißkörper des Plasmas nicht ausflocken, so begnügen sich Halliburton und Pickering, als Ursache der intravasculären Koagulation einen spezifischen gerinnungserregenden Einfluß der Kolloide ohne nähere Erklärung seines Mechanismus anzunehmen. Doch konnte Pickering in extravasculärem Natriumsulfatplasma durch Zusatz der Kolloide keine Gerinnung provozieren; es zeigte sich im Gegenteil, daß die Kolloide die Gerinnung des Plasmas auch dann verhinderten, wenn man $CaCl_2$, Fibrinferment oder destilliertes Wasser in Mengen zufügte, die an sich Gerinnung bewirkten.

Pepton (Witte) und Natriumoxalat übten einen deutlich antagonistischen Einfluß auf die folgende Injektion der Kolloide von Grimaux aus, eine Tatsache, die für die Auffassung des Antagonismus von Peptonvergiftung und anaphylaktischem Chock gewiß ein hohes Interesse bietet.

Halliburton und Pickering identifizieren die Wirkungen ihrer Kolloide völlig mit denen gewisser Nucleoproteide (Extrakte aus lymphoiden Organen, roten Blutkörperchen) und sehen die Ursache dieser physiologischen Identität in der eiweißähnlichen Beschaffenheit der erstgenannten, auf synthetischem Wege erhaltenen Substanzen. Dieser Begründung können wir auf Grund unserer Versuche mit kolloidaler Kieselsäure nicht beipflichten; wohl aber möchten auch wir mit allem Nachdruck auf die engen Relationen verweisen, die zwischen den physiologischen Wirkungen zahlreicher, selbst anorganischer Kolloide einerseits und denen wässeriger Organextrakte (Vasodilatine von Popielski) oder frischen defibrinierten Blutes (Moldovan) andererseits bestehen. Letztere bilden wieder eine Brücke zur Anaphylaxie, bei welcher nach Doerr physikalisch erzeugte Veränderungen des Blutes das pathogenetische Agens darstellen. Im Einzelnen sind die Zusammenhänge frei-

lich noch nicht völlig geklärt, um so weniger, als das Wesen der anaphylaktischen Prozesse zurzeit noch unbekannt ist und es fraglich erscheint, ob wir allen Formen derselben (aktive, passive, Antiserum-Anaphylaxie) völlig gleiche Entstehungsarten oder nur eine weitgehende Verwandtschaft zubilligen dürfen.

Resümieren wir unsere eigenen Ergebnissen, so gelangen wir zu folgenden Schlüssen:

Eiweißfällende Kolloidlösungen, wie Nucleinsäure, dialysiertes Eisenoxydhydrat, besonders auch Kieselsäurehydrosol vermögen bei verschiedenen warmblütigen Tieren krankhafte Symptome auszulösen. Sie können aber nicht als chemische Gifte aufgefaßt werden, da sie bei subcutaner Injektion selbst in großen Dosen das Allgemeinbefinden der Tiere nicht beeinträchtigen (Versuch 15); sie wirken vielmehr als physikalische Agenzien kraft ihrer eiweißfällenden Funktion und entfalten das Maximum der Schädigung bei direkter Einbringung in die Blutbahn.

Die nach intravenöser Injektion auftretenden Symptome sind akut, chokartig und können nur auf Veränderungen bezogen werden, die die eingespritzten Kolloide an den Eiweißkörpern des Blutplasmas erzeugen. Dies geht auch aus folgender Betrachtung hervor: Eine bestimmte Nucleinsäurelösung (Versuch 19) und eine bestimmte Lösung von kolloidaler Kieselsäure (Versuch 8) zeigten ein verschiedenes eiweißfällendes Vermögen und eine verschiedene Toxizität für intravenös injizierte Meerschweinchen; die kleinste Menge, die in konzentriertem Meerschweinchenserum in vitro Präcipitation hervorrief, war ebenso wie die Dosis letalis minima für Kieselsäure dreimal niedriger als für Nucleinsäure. Keinesfalls kann eine Hämagglutination bei der Entstehung der Symptome im Spiele sein, da die toxische Nucleinsäure Meerschweinchenerythrocyten in vitro überhaupt nicht beeinflußt.

Der Chok nach intravenöser Injektion eiweißfällender Kolloide zeigt eine weitgehende Analogie zu den bei anaphylaktischen Vorgängen beobachteten Erscheinungen, besonders zu den Wirkungen solcher präcipitierender Antisera, die gegen die Eiweißkörper der injizierten Tiere gerichtet sind.

So erweisen sich Meerschweinchen gegen Kieselsäurehydrosol auch bei Berücksichtigung des Körpergewichtes als besonders empfindlich, viel empfindlicher als Kaninchen (Versuch 18) und

Hunde. Dem gleichen Verhalten begegnet man auch bei der Anaphylaxie dieser drei Tierspezies.

Kieselsäurehydrosol erzeugt ebenso wie andere Kolloide bei Meerschweinchen eine oft maximale Lungenblähung ohne Ödem (anaphylaktisches Symptom von Auer-Lewis) und Temperatursturz [Versuch 9] (anaphylaktisches Symptom von H. Pfeiffer). Die peripheren Gefäße sind im Kieselsäurechok (Versuch 10) ebenso leer wie im anaphylaktischen Anfall.

Die Symptome bestehen in Dyspnoe, Somnolenz, Krämpfen, Abgang von Kot und Urin; bei Hunden gesellt sich hierzu noch Erbrechen. Die schwersten Erscheinungen können wie bei der Anaphylaxie plötzlich zurückgehen, die Tiere erholen sich in wenigen Minuten und sind nach kurzer Zeit völlig munter.

Die Einwirkung der eiweißfällenden Kolloide auf die Eiweißkörper des Blutplasmas führt konstant zu tiefgreifenden Veränderungen an den Gerinnungsfaktoren des Blutes. Bei intravenös injizierten Meerschweinchen kommt es genau wie nach der endovenösen Einspritzung von Meerschweinchenpräcipitinen und Hämolysinen (Versuch 4, 5, 6, 8, 11, 12, 13, 14, 15, 19, 20) entweder 1. zu einer totalen Herzthrombose, oder 2. zur Entstehung wandständiger Fibringerinnsel, wobei sich der Rest des Blutes als inkoagulabel erweist, oder 3. zu einer partiellen resp. totalen Verminderung der Blutgerinnbarkeit bei Ausbleiben fester Fibrinabscheidungen. Diese drei Folgen sind zum großen Teil von der verwendeten Kolloidmenge abhängig und stellen drei verschiedene Phasen eines identischen Prozesses dar. Mit diesen Blutalterationen, in denen wir die letzte Ursache der krankhaften Störung sehen, vergesellschaftet sich bei protrahiertem Kieselsäurechok ein geringer, aber deutlicher Komplementschwund (Versuch 10).

Atropin wirkt insofern antagonistisch, als die Lungenblähung bei Meerschweinchen ausbleibt und die intravitale Thrombose verhindert wird; letzteres wohl deshalb, weil Atropin die Gerinnbarkeit des Blutes reduziert (nach Kobert). Den Tod durch sicher letale Kieselsäuredosen vermag Atropin weder hintanzuhalten noch zu verzögern (Versuch 12).

Ebenso vermißt man intravasculäre Thrombosen nach präventiver Hirudininjektion, ohne daß die Toxizität der Kieselsäure aufgehoben erscheint; die intravitale Blutkoagulation und das

hierdurch bedingte Zirkulationshindernis kann demnach nicht die eigentliche Todesursache sein.

Prophylaktische Injektionen hoher Kochsalzdosen gewähren gegen die endovenöse Zufuhr von Kieselsäure einen schwachen Schutz (Versuch 13); ähnlich wirkt eine durch Kochsalzinjektion erzeugte Hypertonie des Blutes antagonistisch auf den Ablauf des anaphylaktischen Choks (Friedberger und Hartoch).

Eine vorausgegangene Kieselsäurevergiftung schützt nicht gegen einen anaphylaktischen Chok und umgekehrt (Versuch 14); dieser Umstand sowie die Beobachtungen an Hunden hindern uns, die Vorgänge bei der ersteren mit jenen bei der typischen Anaphylaxie völlig zu identifizieren, was auch deshalb bedenklich erscheint, weil es bei der Anaphylaxie nie zur intravasculären Fibrinabscheidung, sondern stets nur zur Herabsetzung der Blutgerinnbarkeit kommt. Ob Meerschweinchen, die eine Injektion von Meerschweinchenpräcipitin oder Hämolysin überstanden haben, gegen Kieselsäure resistent sind, und umgekehrt, haben wir noch nicht geprüft, behalten uns aber weitere Untersuchungen in dieser Richtung vor. Ebenso sollen über das Verhältnis von Kieselsäure- und Peptonintoxikation später noch eingehende Mitteilungen folgen.

Subcutane Injektion von Kieselsäure erzeugt Hautnekrosen als Analoga der lokalen Anaphylaxie (Versuch 15 und 16), wahrscheinlich infolge von Thrombose der Capillaren und Schädigung ihres Endothels.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wird die Wirkung eiweißfällender Kolloide, und zwar Nucleinsäure, kolloidales Eisenhydroxyd und Kieselsäurehydrosol auf warmblütige Tiere analysiert. Die krankhaften Symptome, die nach intravenöser Injektion jener Kolloide auftreten, werden auf Veränderungen der Eiweißkörper des Blutplasmas zurückgeführt, die in der Alteration der Gerinnungsverhältnisse des Blutes ihren Ausdruck finden. Analoge Veränderungen werden für die Wirkung intravenöser Injektion homologer Antisera (Meerschweinchenpräcipitin auf Meerschweinchen) verantwortlich gemacht und somit jene beiden Prozesse als ihrem Wesen nach identisch betrachtet; vielleicht bestehen auch engere Beziehungen zwischen der typischen Anaphylaxie und dem durch Kolloide erzeugten Chok.

Untersuchungen über Purinstoffwechsel. IX.

Von

U. Rinaldi.

Über den Gehalt der Muskeln verschiedener Tiere an Purinbasen.

Mitgeteilt von

V. Scaffidi.

(Aus dem Laborat. f. Pathologie des ital. Hospitales zu Buenos Aires.)

(Eingegangen am 18. März 1912.)

Die Kenntnis des Gehaltes des Muskelgewebes an Purinbasen kann einerseits bei der Auswahl dieses wichtigen Nahrungsmittels für Stoffwechselkranke von praktischem Nutzen sein, andererseits gewinnt sie ein besonderes Interesse in Hinsicht auf die Rolle der Muskelpurinstoffe für den Harn derjenigen Tiere, bei denen die Harnsäure auf oxydativem Wege gebildet wird [Burian[1]), Scaffidi[2])[3])].

Man nimmt an, daß bei den Säugern der Gehalt des gestreiften Muskelgewebes an Purinbasen zwischen 0,06 und 0,07 % Purin-N schwanke, wie das Burian und Walker-Hall[4]) für das Rind festgestellt. Bei Scyllium catulus hat Scaffidi[5]) in den Muskeln 0,0717 % Purin-N gefunden. Weit weniger reich an Purinbasen erweisen sich nach demselben die Muskeln von Rana esculenta und von Bufo vulgaris, die nach seinen Bestimmungen 0,035 resp. 0,022 % Purin-N enthalten.

Scaffidi[6]) hat auch festgestellt, daß der Gehalt an Purinbasen in den verschiedenen Arten des Muskelgewebes ein ungleicher ist. Am reichsten an Purinbasen fand er das Myocard, dann das gestreifte, willkürliche Muskelgewebe, am ärmsten das glatte. Es entspricht der Purin-N

---

[1]) R. Burian, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43.

[2]) V. Scaffidi, Intern. Beitr. z. Pathol. u. Ther. der Ernährungsstörungen 2.

[3]) Derselbe, diese Zeitschr. 30.

[4]) Burian und Walker-Hall, Zeitschr. f. physiol. Chem. 38.

[5]) V. Scaffidi, diese Zeitschr. 30.

[6]) Derselbe, ibid. 33.

nach seinen Versuchen an den betr. verschiedenen Muskelarten des Rindes 0,0707 % resp. 0,0611 % und 0,0339 %, und das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N stellt sich bei denselben auf 40,6; 48,6; 78,76.

Vorliegende Versuche sind am Muskelgewebe eines Polypen (Octopus), verschiedener Fische und Vögel vorgenommen worden[1]).

Jedesmal ist das Muskelgewebe auf das sorgfältigste von den anderen Geweben gereinigt worden.

Beim Huhn, Rehhuhn und Truthahn sind die Bestimmungen an den Muskeln verschiedener Exemplare wiederholt worden. Beim Huhn und beim Truthahn sind die Brust- und die Schenkelmuskulatur gesondert untersucht worden.

Der Purinbasen-N ist nach der Methode der doppelten Fällung nach Burian und gleichzeitig der Gesamt-N nach Kjeldahl bestimmt worden.

Die Ergebnisse sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Namen der benutzten Tiere	N der Purinbasen %	Gesamt-N %	Gesamt-N / Purinbasen-N
Sábana	0,0664	3,01	45,34
Pejerrey	0,0816	2,94	36,03
Corbina	0,0750	2,898	38,64
Merlan (Mittel aus 2 Bestimmungen)	0,0595	2,702	45,41
Polyp (Muskel des Mantels)	0,0436	2,212	50,73
Truthahn, Brustmuskeln	0,0865	3,51	40,57
Truthahn, Schenkelmuskeln	0,0848	3,23	38,1
Rebhuhn (Brust- und Schenkelmuskeln zusammen)	0,0796	3,73	46,85
Huhn, Brustmuskeln	0,0964	3,23	33,50
Huhn, Schenkelmuskeln	0,0902	3,19	35,36
Ente (Schenkelmuskeln)	0,1061	3,136	29,57

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß im Muskelgewebe der vier untersuchten Fischarten die Menge der Purinbasen zwischen einem

[1]) Neben den kürzeren, hierzulande gebräuchlichen Namen der Versuchstiere, gebe ich hier deren zoologische Namen: Huhn: Gallus domesticus; eine bestimmte Art Rebhuhn: Nothura maculosa; Ente: Anas cristata; Truthahn: Meleagris gallopavo; Merlan: Gadus morrhua; Corbina: Micropogon ornatus; Pejerrey: Atherinichthis bonariensis; Sábana: Für diesen letzteren, wie die vorhergehenden als Speise hier sehr beliebten Fische, ist es mir nicht möglich gewesen, die genaue Bezeichnung ausfindig zu machen; ebensowenig für den Polypen, der dem Genus octopus angehört.

Maximum von 0,0816 % (bei Pejerrey) und einem Minimum von 0,0595 % Purin-N (bei Merlan) schwankt. Sábana und Corbina ergaben 0,0664 % resp. 0,075 % Purin-N.

Der Gesamt-N verhält sich gegenüber dem N der Purinbasen bei diesen Fischen nicht proportional; das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N schwankt zwischen 36,03 (bei Pejerrey) und 45,65 (bei Merlan).

Im Muskelgewebe des Mantels der Polypen zeigte sich der Gehalt an Purinbasen bedeutend niedriger als bei allen anderen untersuchten Tieren, und das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N stellt sich bei diesem Weichtiere auf 50,73.

Bei den Versuchen an den Muskeln der Vögel ist hervorzuheben, daß ihr Gehalt an Purinbasen sich immer als sehr hoch erwiesen hat. Weiter, daß beim Huhn und beim Truthahn der Purinbasengehalt der Brustmuskeln ein etwas höherer ist als der der Schenkelmuskeln beim gleichen Tiere. So enthielten die Brustmuskeln des Truthahns 0,0865 % Purin-N, seine Schenkelmuskeln hingegen 0,0848 %. Beim Huhn sind zahlreiche Versuche gemacht worden; die in der Tabelle verzeichneten Werte entsprechen dem Mittel der einzelnen Bestimmungen. Nach diesem enthalten die Muskeln der Hühnerbrust 0,0964 % Purin-N, die des Hühnerschenkels 0,0902 %. — Aus den Ergebnissen der einzelnen Bestimmungen ist hervorgegangen, daß der Gehalt an Purinbasen der Hühnerbrust zwischen 0,0832 % Purin-N und 0,1165 % schwankt, der der Schenkel zwischen 0,082 % und 0,0985 %.

Das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N beläuft sich, nach den in der Tabelle wiedergegebenen Werten berechnet, für die Brustmuskeln des Truthahns auf 40,57 und für die Schenkelmuskeln desselben Tieres auf 38,1; für das Huhn ist es noch niedriger: es entspricht 35,51 für die Brustmuskeln und 35,36 für die der Schenkel.

Beim Rebhuhn sind Brust- und Schenkelmuskeln zusammen verarbeitet worden, und deren Gehalt an Purin-N hat sich auf 0,0796 % belaufen; das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N entspricht 47,01.

Bei der Ente sind nur die Schenkelmuskeln zu den Versuchen verwandt worden; ihr Gehalt an Purin-N war 0,1061 % und das Verhältnis Gesamt-N : Purin-N gleich 29,57.

Diese Ergebnisse fordern zu einigen Betrachtungen auf: Man war gewöhnt, das Fleisch der Vögel, zum Teile wenigstens, als an Extraktivstoffen weniger reich als das der Säuger zu betrachten. In Wirklichkeit ist es nach den Ergebnissen dieser meiner Versuche gerade umgekehrt. Ferner ist bemerkenswert, daß bei den einzelnen Tieren das Gewebe jener Muskelgruppen, denen eine höhere Arbeitsleistung zukommt, sich an Purinbasen reicher erweist. Diese Tatsache reiht sich den Ergebnissen von Scaffidi[1]) an, nach denen, wie oben angedeutet worden, in den verschiedenen Arten von Muskelgeweben der Purinbasengehalt im gleichen Sinne schwankt.

---

[1]) V. Scaffidi, l. c.

Im Anschluß an diese Ergebnisse habe ich eine zweite Reihe von Versuchen angestellt, in denen ich den Trockenrückstand der zur ersten Versuchsserie benutzten Muskeln festgestellt und mit diesem die Werte für Gesamt-N und für Purinbasen-N, wie sie in der Tabelle angegeben, verglichen habe.

In der Tabelle II sind die Werte des Trockenrückstandes und der Prozentgehalt an Wasser der untersuchten Muskelgewebe angegeben. In den meisten Fällen beziehen sich die Werte auf die Muskeln der gleichen Tiere (Exemplare), die zur Bestimmung des Gesamt-N und des Purin-N-Gehaltes gedient haben. In den anderen Fällen sind die Werte Mittel mehrerer, an verschiedenen Tieren (Exemplaren) ausgeführter Bestimmungen, so daß die individuellen Schwankungen, wenn nicht absolut ausgeglichen, doch auf einen äußerst geringen Wert herabgesetzt sind.

Tabelle II.

Namen der benutzten Tiere	100 g Muskelgewebe enthalten		100 g Trockenrückstand enthalten	
	Wasser	Trockenrückstand	Purinbasen-N	Gesamt-N
Sábana	78,82	21,18	0,3135	14,21
Pejerrey	78,99	21,01	0,3884	13,99
Corbina	81,357	18,643	0,4023	15,54
Merlan	81,64	18,36	0,3241	14,71
Polyp	85,6	14,4	0,3028	15,36
Truthahn Brust	79,197	20,803	0,4158	16,87
Truthahn Schenkel	77,125	22,875	0,3707	14,12
Rebhuhn	76,855	23,145	0,3439	16,11
Huhn Brust	76,84	23,16	0,4162	13,94
Huhn Schenkel	76,32	23,68	0,3809	13,47
Ente	75,04	24,96	0,4251	12,56

Aus dieser Tabelle ist ersichtlich, daß, wenn man die Werte für Gesamt-N und Purin-N der Tabelle I auf den Trockenrückstand bezieht, die Unterschiede weit geringer erscheinen als an den frischen Muskeln. Der N der Purinbasen schwankt nun zwischen einem Minimum beim Polypen von 0,3028 % und einem Maximum von 0,4251 % des Trockenrückstandes der Schenkelmuskulatur bei der Ente.

Bei den Fischen findet sich ein Minimum von 0,3184 % (Sàbana) und ein Maximum von 0,4023 % (Corbina).

Bei den Vögeln, mit Ausnahme der Muskeln der Entenschenkel, die weitaus am reichsten an Purinbasen sind, zeigen sich die Brustmuskeln im Rückstande reicher an Purinbasen als die Schenkelmuskeln. Es enthalten die ersteren beim Truthahn 0,4158 %, beim Huhn 0,4151 %, die letzteren 0,3707 % resp. 0,3809 % Purin-N.

Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß sowohl die ziemlich großen Unterschiede im N-Gehalte der Muskeln bei den verschiedenen Tieren zum größten Teile von dem abweichenden Wassergehalte der Gewebe

abhängig sind, jedoch die Unterschiede in den Muskelgruppen der einzelnen Tiere (Huhn, Truthahn) im gleichen Sinne bestehen bleiben. Beim Truthahn, bei dem die Brustmuskeln ärmer an Trockenrückstand sind, als die Schenkelmuskeln, erscheint die Differenz noch auffälliger.

Man kann aus dem Mitgeteilten folgende Schlüsse ziehen:

1. Der Purinbasengehalt des gestreiften Muskelgewebes der verschiedenen Tiere ist am geringsten im Mantel der Polypen, dann kommt derjenige der Muskeln der Fische, und endlich als der höchste derjenige der Muskeln bei den Vögeln.

2. Bei den Vögeln ist der Gehalt des Muskelgewebes noch höher als derjenige der Muskeln der Säuger; bei den Vögeln ist der Gehalt an Purinbasen der Brustmuskulatur wiederum ein höherer als der der Schenkelmuskeln.

3. Die nicht unbeträchtlichen Schwankungen im Gehalte an Purin-N und an Gesamt-N, bezogen auf die frischen Muskeln der einzelnen Tiere, bewegen sich innerhalb engerer Grenzen, wenn man sie dabei auf den Trockenrückstand bezieht. Es hängen also besagte Schwankungen zum größten Teil vom verschiedenen Wassergehalte des Muskelgewebes ab, der bei den einzelnen Tierarten und Exemplaren ungleich ist.

4. Der Gehalt an Purinbasen des Muskelgewebes zeigt größere Schwankungen als deren Gehalt an N-haltigen Stoffen insgesamt.

5. Die Schwankungen im Verhältnis Gesamt-N:Purinbasen-N hängen also zumeist von den Schwankungen im Gehalte an Purinbasen ab.

6. In Rücksicht auf den hohen Gehalt an Purinbasen, denen erwiesenermaßen bei der Bildung der exogenen Harnsäure eine wichtige Rolle zukommt, muß das Fleisch der Vögel als Nahrungsmittel für Purinstoffwechselkranke als wenig geeignet erscheinen.

7. Der höhere Purinbasengehalt der Muskeln der Vögel muß mit der Art und Weise, nach der bei diesen Tieren die Bildung der Harnsäure vor sich geht, in Zusammenhang gebracht werden: Bei den Säugern entsteht die Harnsäure auf oxydativem Wege und zum weitaus größten Teile aus den Muskelpurinstoffen; bei den Vögeln hingegen ist sie synthetischen Ursprungs und man muß annehmen, daß die Muskelpurinstoffe bei ihrer Bildung bei diesen Tieren gar keine oder doch nur eine sekundäre Rolle spielen.

Leberglykogenbildung bei intravenöser Zuckerinjektion.

Von

Ernst Freund und Hugo Popper.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung", Wien.)

(Eingegangen am 19. März 1912.)

Die bisherigen Untersuchungen über die Pathogenese des Diabetes mellitus haben mit großer Wahrscheinlichkeit festgestellt, daß bei demselben die Fähigkeit der Leber, den aus dem Darm anlangenden Zucker in Glykogen umzuwandeln, oder dieses zu fixieren, vermindert oder geschwunden sei; es fehlte aber bis in die jüngste Zeit an experimentellen Untersuchungen, die klargestellt hätten, von welchen Bedingungen Bildung und Ablagerung des Glykogens in der Leber unmittelbar abhängig seien. Die Methode, mit welcher diese Frage früher bearbeitet wurde, war die Fütterungsmethode, welche viele berechtigte Einwände zuläßt; von einer direkten Zufuhr von Kohlehydraten zur Leber scheute man zurück, weil es — bei der vielfach festgestellten Leichtigkeit, mit welcher selbst abgelagertes Glykogen in Zucker rückumgewandelt wird — wenig aussichtsvoll erschien, Neuansatz zu erzielen.

Im Jahre 1903 nun hat Grube[1]) bei Durchströmung überlebender Katzenlebern mit Zuckerlösungen eine deutliche Zunahme des Leberglykogens gefunden; bei Hundelebern und bei Schildkröten, bei welchen die anatomischen Verhältnisse eine besonders zuverlässige Kontrolle ermöglichen, war dieselbe geringer.

---

[1]) Grube, Journ. of Physiol. 29, 276. — Arch. f. d. ges. Physiol. 107, 483, 490. Über die vor Grube ausgeführten Untersuchungen von Luchsinger*) und Martz**) vgl. die Kritik Grubes.

---

*) Luchsinger, Inaug.-Diss. Zürich 1875.

**) Martz, Thèse de Lyon 1897.

Die ersten Versuche am lebenden Warmblütler (Hund) rühren von A. Croftan[1]) her. Derselbe fand Glykogenvermehrung in der Leber nur dann, wenn den Tieren die Dextrose in den Magen gebracht wurde nicht aber bei Injektion derselben in eine Mesenterialvene; er zieht den Schluß, daß die Dextrose bei der Passage durch die Darmwand eine Umwandlung erfährt, welche erst die Leber befähige, sie in Glykogen weiter umzubilden, oder daß die Bildung von Glykogen schon in der Darmwand selbst beginne. Grube[2]), der eine Nachprüfung vornahm, kam zu abweichenden Ergebnissen: in beiden Versuchen, die er anstellte, erhielt er bei Zuckerzufuhr durch die Mesenterialvene eine beträchtliche Zunahme des Glykogens in der Leber.

Noch vor der Veröffentlichung der Warmblütler-Versuche von Croftan und Grube[3]) waren wir darangegangen, diese Methode zum Studium der Leberglykogenbildung unter pathologischen Bedingungen, besonders im Diabetes, zu benützen. Dafür erschien es als wichtigste Vorbedingung, Klarheit über Zuverlässigkeit und Größe der Glykogenbildung unter physiologischen Bedingungen zu gewinnen. Die ersten Versuche stellten wir an Hunden an, welche durch mehrtägiges Hungern und Laufen in der Laufmaschine soweit wie möglich glykogenfrei gemacht worden waren. Diesen Tieren wurde, ohne sie aufzubinden und ohne Anwendung eines Anaestheticums, 2%ige Traubenzuckerlösung in eine Ohrvene injiziert. Im nachstehenden ist das Ergebnis eines dieser Versuche wiedergegeben.

Versuch 4. Einem 9 kg schweren Hunde, der 3 Tage gehungert hatte, wurden binnen 25 Minuten 85 ccm einer 25%igen Zuckerlösung mit 0,6%igem NaCl-Gehalt in die Ohrvene injiziert. Tötung des Tieres durch Luftembolie. Verarbeitung der Leber nach Pflüger. Der Glykogengehalt (als Zucker berechnet) betrug 10,78 g. In der Blase wurden 50 ccm Harn vorgefunden. Der Zuckergehalt desselben betrug 2,4%.

Es fand sich bei diesem und ähnlichen Versuchen eine immerhin auffallende Menge Glykogen in der Leber bei Tieren, welche gehungert und gearbeitet hatten; da diese Versuche jedoch einen einwandfreien Beweis für die Neubildung von Glykogen während der Versuchszeit nicht ergeben konnten, wurde bei allen folgenden Versuchen in der Weise vorgegangen, daß vor Einverleibuug der Zuckerlösung ein Stück der Leber zur Kontrolle exstirpiert wurde. Den Tieren wurde — in tiefer

---

[1]) Croftan, Arch. f. d. ges. Physiol. 1909, S. 407.

[2]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. 1909, S. 529.

[3]) Die vorliegende Arbeit wurde 1909 ausgeführt; durch äußere Umstände gelangt sie erst jetzt zur Veröffentlichung.

Narkose — das Abdomen in der Mittellinie eröffnet; einer der kleineren Lappen wurde vorgezogen, an seiner Basis durch ein mit feuchter Watte umwickeltes Garnband abgeschnürt, mit dem Messer abgetragen, gewogen und sofort der Glykogenbestimmung nach Pflüger zugeführt. Auf diese Weise gelingt die Exstirpation ohne jeden Blutverlust und ohne Nachblutung.

Das weitere Vorgehen war verschieden. Bei einer Reihe von Versuchen, bei welchen die Zuckerlösung in einen Pfortaderast eingebracht werden sollte, wurde eine Dünndarmschlinge vorgezogen, eine Kanüle in einen größeren Ast der Vena mesenterica eingebunden und die Zuckerlösung (welche bei einer Temperatur von ca. 37° gehalten wurde) mit einer Spritze langsam und gleichmäßig injiziert, im Laufe einer Stunde ca. 200 bis 300 ccm. Die Bauchwunde wurde durch Klemmen bis auf einen kleinen Schlitz für die Kanüle geschlossen; durch warme, häufig gewechselte Tücher suchten wir ein Absinken der Temperatur hintanzuhalten. In anderen Fällen wurde in eine Körpervene (gewöhnlich in die V. femor.) injiziert; einige Male wurde die Lösung in das Darmlumen selbst eingespritzt. Unmittelbar nach Beendigung der Injektion wurde das Tier getötet, und zwar gewöhnlich durch Luftembolie, indem nun statt der Flüssigkeit Luft in die Vene eingetrieben wurde; der Tod erfolgt hierbei in wenigen Sekunden. Dann wurde die Leber rasch entnommen, gewogen und zerkleinert, und entsprechende Mengen teils nach der Pflügerschen Methode, teils nach Brücke verarbeitet. Die im folgenden angegebenen Zahlen beziehen sich immer auf die nach Pflüger erhaltenen Werte[1]).

Als Vorbedingung eines solchen Vergleiches einer Leberpartie vor und nach einer Zuckerinjektion muß der Nachweis gelten, daß der Glykogengehalt der Leber ein in allen Teilen gleichmäßiger sei. Dieser Nachweis wurde für die Schildkröte von Grube[2]) geführt, von Nishi[3]) bestätigt. Beim Hunde

[1]) In einer Reihe von Fällen, in denen wir keine Glykogen-Vermehrung gefunden haben, ergab sich eine Vermehrung von Kohlehydraten, welche durch Alkohol nicht fällbar, durch Kochen mit Kalilauge nicht zerstörbar waren, und sich durch eine ungemein starke Molisch-Reaktion dokumentierten. Das Vorkommen dieser Substanz machte den Eindruck, als ob es sich hier um einen Zwischenkörper zwischen Zucker und Glykogen handelte.

[2]) Grube, Arch f. d. ges. Physiol. 107, S. 483.

[3]) Nishi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62, S. 190.

fand **Grube**, daß ein kleiner Lappen immer glykogenreicher ist als die Leber als ganzes, und begründet dies mit dem größeren Gefäß- und Bindegewebsreichtum der letzteren. Erscheint daher die Leber nach Beendigung des Versuches auch nur gleich reich an Glykogen als der vorher exstirpierte Kontrollappen, so spricht dies bereits für eine während der Versuchszeit stattgehabte Neubildung, und jede gefundene Vermehrung ist daher entsprechend höher einzuschätzen. Nach neueren Untersuchungen von **Macleod** und **Pearce**[1]) betragen die Unterschiede der Glykogenmenge in einzelnen Abschnitten der Hundeleber nur 6 $^0/_0$.

Es war ferner nötig, die äußeren Verhältnisse klarzustellen, welche von Einfluß auf die Glykogenbildung sein konnten, insbesondere Ernährungszustand und Narkose. Wir haben Tiere sowohl nach 1 bis 3 tägigem Hungern als auch gefütterte Tiere zur Untersuchung herangezogen und bei ihnen verschiedene Narkotika angewendet. Für ungeeignet hielten wir Morphin, von dem bekannt ist, daß es in größeren Dosen Glukosurie erzeugt. Chloroform wurde nur vereinzelt angewendet. Zwar hat **Pflüger**[2]) nachgewiesen, daß die Behauptung, es trete nach längerer Chloroformnarkose Glukosurie auf, nicht zu Recht bestehe, und daß es sich hier um rechtsdrehende Substanzen nicht zuckerartiger Natur handle. Doch gelang es mit Äther stets, eine ruhige Narkose herbeizuführen.

Bei einer Reihe von Fällen, bei welchen keine Inhalationsnarkose angewendet wurde, erschien es uns von Interesse, das Opium zu versuchen, welches, wie klinische Erfahrungen zeigen, eines der wenigen Mittel ist, welche die Zuckerausscheidung beim menschlichen Diabetes herabzusetzen vermögen, von dessen Anwendung also nicht von vornherein ein ungünstiger Einfluß auf die Glykogenbildung zu erwarten war. Wir verwendeten subcutane Injektionen von 5 bis 10 ccm der Tinktur. Bei richtiger Dosierung gelingt es in der überwiegenden Zahl der Fälle, gleichmäßigen und ruhigen Schlaf herbeizuführen, so daß die Laparatomie und Injektion der Lösungen ohne Schmerzäußerung von seiten der Tiere vor sich gehen kann. Zu ver-

---

[1]) **Macleod** und **Pearce**, Americ. Journ. of Physiol. 27, S. 341.

[2]) **Pflüger**, Das Glykogen.

meiden ist eine zu große Dosis, nach welcher Intoxikationserscheinungen, Krämpfe auftreten können, und sich in einigen Fällen ein deutlicher Glykogenschwund einstellte.

Die verwendeten Zuckerlösungen waren 1, 2, 5, 10 und 25%. Vergiftungserscheinungen bei Verwendung der konzentrierten Lösungen beobachteten wir nie. Die Flüssigkeiten wurden stets auf 0,6%igen NaCl-Gehalt gebracht.

Fast in allen Fällen wurde am Ende der Versuche der Zuckergehalt des Harnes, in einer Reihe der des Blutes bestimmt.

In der folgenden Tabelle sind einige Versuche zusammengestellt, welche bei Tieren, die 3 Tage gehungert hatten, ausgeführt wurden. Die Narkosen wurden durch Opium allein, durch Opium und Narcein, durch Opium und Äther bewerkstelligt.

Tabelle I[1]).

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
10	9,0	Opium	60	10%ige Zuckerlösung 200 ccm	250	∅	Spuren	—	—	5,0	Ohrvene
11	9,5	do.	30	10%ige Zuckerlösung 400 ccm	250	∅	„	—	—	—	V. femoralis
9	13,0	do.	30	25%ige Zuckerlösung 140 ccm	400	0,68	4,8	4,2	—	—	do.
12	9,0	do.	30	25%ige Zuckerlösung 150 ccm	280	0,22	3,47	3,25	—	1,5	do.
18	7,5	Opium-Narcein	30	25%ige Zuckerlösung 250 ccm	230	∅	1,93	1,93	—	5,2	do.
8	9,5	Opium-Äther	60	25%ige Zuckerlösung 150 ccm	300	6,84	7,92	1,08	—	—	V. mesenterica

Bei den Versuchen 10 und 11, welche mit 10%iger Zuckerlösung ausgeführt wurden, zeigt sich nur ein sehr geringer

[1]) Das Glykogen ist hier und im folgenden als Zucker berechnet.

Glykogenansatz, ein größerer bei Versuch 9 und 12, bei welchen 25 %ige Zuckerlösung verwendet wurde. Ebenso ist bei Versuch 18 und 8 eine mäßige Zunahme zu verzeichnen.

Aus diesen Versuchen läßt sich der Schluß ziehen, daß mehrtägiges Hungern eine, wenn auch mäßige Glykogenbildung und Deponierung in der Leber nicht hindert.

Die folgende Tabelle enthält Versuche bei Tieren nach 2- und 1 tägigem Hungern.

Tabelle II.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
13	8,2	Opium	30	25 %ige Zuckerlösung 240 ccm	250	1,75	8,75	7,0	—	—	V. mesenterica
24	7,5	do.	45	25 %ige Zuckerlösung 280 ccm	200	2,4	5,4	3,0	0,54	5,3	do.
25	11,0	do.	60	25 %ige Zuckerlösung 500 ccm	300	0,39	4,2	3,81	1,9	4,2	do.
34	8,5	do.	60	5 %ige Zuckerlösung 500 ccm	250	1,3	2,59	1,29	0,16	3,5	do.
27	11,5	Opium-Äther	60	25 %ige Zuckerlösung 500 ccm	320	4,8	7,0	2,2	0,66	4,2	do.
19	9,5	Opium-Narcein	30	25 %ige Zuckerlösung 150 ccm	250	∅	∅	—	—	—	do.
20	10,0	do.	30	25 %ige Zuckerlösung 200 ccm	200	∅	Spuren	—	—	6,0	do.
41	9,5	Chloroform-Äther	60	25 %ige Zuckerlösung 350 ccm	300	2,6	5,2	2,6	0,8	3,85	do.

Diese Versuche zeigen sowohl bei Anwendung von Opium allein, als auch bei Opium und Äther und auch bei dem Versuche, wo Chloroform mitverwendet wurde, eine zum Teil sehr beträchtliche Neubildung von Glykogen. Die zwei Versuche,

wo neben Opium Narcein verwendet wurde, zeigen keinen Ansatz oder nur Spuren eines solchen. Der Grund mag darin liegen, daß die Opiumdosis geringer war als sonst und durch den Narceinzusatz keine ruhige Narkose zu erzielen war.

Tabelle III.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
31	8,5	Opium	60	25%ige Zuckerlösung 500 ccm	260	2,15	1,85	—	1,96	12,3	V. mesenterica
36	7,5	Opium-Narcein	60	25%ige Zuckerlösung 500 ccm	230	Spuren	0,58	0,58	1,44	7,3	do.
26	7,5	Morphin-Äther	60	25%ige Zuckerlösung 450 ccm	250	0,82	1,25	0,43	0,64	2,7	do.
42	8,5	Chloroform-Äther	60	2%ige Zuckerlösung 400 ccm	300	4,2	6,6	2,4	0,22	3,3	do.

Von den in vorstehender Tabelle angeführten Versuchen, die während der Verdauung ausgeführt wurden, zeigt Versuch 31 eine Abnahme, die anderen Zunahmen, die geringer sind als bei 1- und 2 tägigem Hungern. Unter unseren Versuchsbedingungen ist also eine Begünstigung der Deponierung des Glykogens durch den Verdauungszustand nicht zu konstatieren.

Ein weiteres Ergebnis dieser orientierenden Versuche war die Erkenntnis, daß eine der wichtigsten Vorbedingungen für die Bildung und Ablagerung von Glykogen in der Leber während des Versuches in einer vollkommenen ruhigen Narkose gelegen sei. Eine unvollkommene Narkose mit Unruhe des Tieres hatte, wie uns mehrere hier nicht besonders angeführte Versuche zeigten, stets eine Verminderung des Glykogens zur Folge. Wir sind geneigt, die negativen Ergebnisse von Croftan[1]) auf einen solchen Versuchsfehler zu beziehen; derselbe erwähnt nämlich ausdrücklich, daß er bei seinen Versuchen nur leichte Narkose

[1]) l. c.

anwendete und das Sträuben der Tiere durch Lagerung in einen dicht anschließenden Behälter hintanhielt.

Die Ursache für diesen Einfluß der Narkose konnte, wofür eine Reihe von experimentellen Untersuchungen sprechen, darin gelegen sein, daß jede stärkere nervöse Erregung eine Rückumwandlung des vorhandenen oder neugebildeten Glykogens in Zucker bedingt. Es war naheliegend, diese nervösen Einflüsse auf einem anderen Wege auszuschalten, als durch tiefe Narkose. Die zentrifugalen Bahnen dieser Reize verlaufen bekanntlich vom Gehirn durch das Rückenmark und den Grenzstrang des Sympathicus auf dem Wege des Splanchnicus zur Leber. Wir versuchten hohe Durchschneidung des Rückenmarkes zwischen 3. und 4. Halswirbel. Die Injektion der Zuckerlösung geschah dann ohne Narkose.

Tabelle IV.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht des Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
38	7,5	Opium-Äther	45	25 %ige Zuckerlösung 400 ccm	270	0,43	1,8	1,37	1,5	starke Reduktion	V. mesenterica
39	6,5	do.	60	25 %ige Zuckerlösung 500 ccm	200	2,02	4,5	2,48	2,25	6,6	do.

Die beiden Versuche zeigen eine mäßige Zunahme. Eine besondere Begünstigung des Ansatzes ist nicht zu erkennen und wohl auch nicht zu erwarten, denn die Durchschneidung des Rückenmarkes und die künstliche Respiration bilden doch einen schweren Eingriff. Dasselbe gilt wohl auch von der Durchschneidung des Splanchnicus im Thorax, von welcher wir deshalb abgesehen haben.

Einfluß des Ortes der Injektion.

In einigen Versuchen wurde die Injektion in eine Körpervene vorgenommen.

Tabelle V.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmaterials	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
8	9,5	Opium-Äther	60	25%ige Zuckerlösung 150 ccm	300	6,84	7,92	1,08	—	—	Ohrvene
9	13,0	Opium	30	25%ige Zuckerlösung 140 ccm	400	0,68	0,7	0,02	—	—	Vena femoralis
10	9,0	do.	60	25%ige Zuckerlösung 200 ccm	250	—	Spuren	—	—	7	do.
11	9,5	do.	30	10%ige Zuckerlösung 400 ccm	250	—	„	—	—	—	do.
12	9,0	do.	30	25%ige Zuckerlösung 150 ccm	280	0,22	3,47	3,25	—	1,2	do.
46	6,5	Chloroform-Äther	60	2%ige Zuckerlösung 400 ccm	220	8,25	8,49	0,24	0,26	1,76	do.

In allen wurde eine Zunahme des Leberglykogens festgestellt. Durchschnittlich ist die Zunahme geringer als bei jenen Versuchen, wo in Pfortaderäste injiziert wurde. Dieses Resultat kann nicht als auffallend bezeichnet werden, da bei Injektion in eine Körpervene die Verdünnung allein bewirkt, daß eine Zuckerlösung von viel geringerer Konzentration zu den Leberzellen gelangt.

In zwei Versuchen haben wir, in Nachahmung der natürlichen Verhältnisse und zu Vergleichzwecken die Zuckerlösung in das Darmlumen eingebracht.

Beide Male ergab sich nach Beendigung des Experimentes eine deutliche Verminderung des Glykogengehaltes der Leber. Einen Beweis dafür, daß tatsächlich Resorption stattgefunden hatte, ergab die Untersuchung des Harnes, der beträchtlichen Zuckergehalt aufwies. Das Resultat dieser Versuche muß auffallend erscheinen, wenn man bedenkt, daß wir sogar bei Injektion in eine Körpervene konstant Glykogenansatz erhielten. Auf zwei Möglichkeiten der Erklärung sei hier hingewiesen.

Tabelle VI.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
35	8,0	Opium	60	5%ige Zuckerlösung 200 ccm	200	1,3	0,34	—	0,04	0,66	Darmlumen
45	9,0	Chloroform-Äther	60	5%ige Zuckerlösung 500 ccm	300	21,1	14,1	—	0,44	starke Reduktion	do.

Entweder war die zur Resorption gelangende Menge doch bedeutend geringer als bei intravenöser Einflößung, so daß die Menge des neugebildeten Glykogens der des offenbar stetig in Zucker umgesetzten nicht die Wage hielt, oder daß durch die Injektion der konzentrierten Zuckerlösung in das Darmlumen nervöse Erregungen hervorgerufen wurden, welche eine starke Glykogenausscheidung aus der Leber bewirkten. Croftan[1]) hat, wie erwähnt, bei seinen Versuchen positive Ergebnisse gehabt. Seine Versuche unterscheiden sich von unseren darin, daß er nach Exstirpation eines Stückes der Leber die Bauchwunde vollkommen schloß, die Tiere wieder aufwachen ließ, dann den Zucker in Kapseln in den Magen einbrachte und so zur Resorption gelangen ließ, also vielleicht natürlichere Resorptionsbedingungen schuf, als bei unseren Versuchen vorlagen. Zum Vergleiche mit unseren übrigen Versuchen mußte aber eine vollkommen gleiche Versuchsanordnung gewählt werden.

Abgesehen von einem direkten Eingriff auf das Nervensystem — Durchschneidung von Leitungsbahnen — konnte auch an eine medikamentöse Beeinflussung desselben gedacht werden. Es kamen hier die sog. Nervengifte — reizende und lähmende — in Betracht, und zwar besonders solche, von denen bekannt ist, daß sie in Beziehung zu den Funktionen des Verdauungssystems (Darm, Leber, Pankreas) stehen. An erster Stelle ist hier das Opium zu nennen. Bei jenen Versuchen nun,

[1]) l. c.

welche bei alleiniger Opiumnarkose ausgeführt wurden und von denen einige einen beträchtlichen Ansatz von Glykogen erkennen lassen, ist eine direkte begünstigende Beeinflussung der Glykogenbildung oder Einschränkung der Ausschwemmung durch Nervenwirkung des Opiums nicht von der Hand zu weisen. So könnte auch die bekannte, die Zuckerausscheidung herabsetzende Kraft des Opiums beim menschlichen Diabetes erklärt werden.

Das Vorhandensein zweier Gruppen entgegengesetzt wirkender Alkaloide im Opium legte es nahe, nach dem wirksamen Alkaloid zu suchen. Ein klares Ergebnis hatten diese Untersuchungen im Tierexperimente nicht. Mehrere Körper aus verschiedenen Gruppen, die wir prüften, ließen keine deutliche befördernde oder hemmende Wirkung erkennen. Vielleicht hatten wir keines der richtigen Alkaloide in Händen oder sie verhalten sich beim Tiere anders als beim Menschen, denn Versuche am Krankenbette beim menschlichen Diabetes, über die wir an anderer Stelle zu berichten gedenken, ergaben, daß zum mindesten dem Narcein eine ähnliche Wirkung wie dem Opium selbst zukommt.

Von anderen Körpern, die wir prüften, ergab ein Versuch mit Eserin eine Zunahme von über 3,5 g, was bemerkenswert erscheint mit Rücksicht auf die bei manchen Fällen von Diabetes beobachtete Wirksamkeit desselben.

Tabelle VII.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
40	9,5	Opium	60	25%ige Zuckerlösung + Physostigmin 500 ccm	360	Spuren	3,78	3,78	1,38	3,85	Vena mesenterica

Die hier kaum angedeutete Richtung, Feststellung der Einwirkung von Giften auf die glykogenbildende Tätigkeit der Leberzellen, bedarf weiterer Untersuchungen. Ein gleich großes, physiologisches und pathologisches Interesse nimmt die Beeinflussung der Leber durch Hormone in Anspruch. Hier kommt

in erster Linie das Pankreas-Hormon in Betracht, dem eine bedeutungsvolle Rolle im Zuckerstoffwechsel zugeschrieben wird.

Aus jüngster Zeit stammen zwei experimentelle Arbeiten, die sich mit dieser Funktion des Pankreas beschäftigen und zu abweichenden Ergebnissen gelangten. Nishi[1]) machte Schildkröten durch Pankreasexstirpation diabetisch und durchströmte dann deren Leber mit Ringerscher Lösung, welcher Dextrose zugesetzt war. Er fand bei diesen Tieren in der Menge des neugebildeten Glykogens keinen Unterschied gegenüber Kontrolltieren. Dagegen fand Boruttau[2]) bei Zusatz von Pankreasextrakt zur Speiseflüssigkeit des überlebenden Herzens herabgesetzten Glykogenverbrauch und führt dies auf Begünstigung der Kohlehydratspeicherung zurück.

Da bisher keine Methode besteht, auf die innere Sekretion des Pankreas einzuwirken, schien es uns des Versuches wert, wenigstens die äußere Sekretion anzuregen, wegen der Möglichkeit, dadurch auch die innere Sekretion zu begünstigen. Wir haben die Tatsache benützt, daß die Einführung von Salzsäure in das Duodenum die äußere Sekretion des Pankreas mächtig anregt. Es wurde so vorgegangen, daß 0,2°/₀ HCl in den Magen injiziert wurde.

Tabelle VIII.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker °/₀	Harnzucker °/₀	Injektionsstelle
32	12,0	Opium	90	25°/₀ige Zuckerlösung 500 ccm	280	1,9	3,0	1,1	0,67	6,6	V. mesenterica 0,2°/₀ HCl in den Magen

Der Versuch zeigt gegen ähnliche keine besondere Beeinflussung der Glykogenbildung. In einem weiteren Versuche wurden neben der HCl-Injektion in den Magen noch 100 ccm eines wässerigen auf 0,1°/₀ Natr.-citric.-Gehalt gebrachten Pankreasextraktes innerhalb 20 Minuten in die Vena jugularis, hier-

[1]) l. c.

[2]) Boruttau, VIII. Intern. Physiol. Kongreß, Wien 1910.

auf die Zuckerlösung in der gewöhnlichen Weise in eine Darmvene injiziert.

Tabelle IX.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
33	9,0	Opium	105	500 ccm 25%ige Zuckerlösung + 100 Pankreas + Salzsäure	280	Spuren	2,34	2,34	1,44	6,8	Vena mesenterica, 0,2% HCl in den Magen, Pankreas-Extr. in die V. jug.

Der Versuch ergab ebenfalls keine besondere Begünstigung der Glykogenbildung.

In weiteren Versuchen wurde der Pankreasextrakt (Schweinepankreas) der Zuckerlösung selbst zugesetzt und diese Flüssigkeit dann in der gewöhnlichen Weise in eine Darmvene injiziert.

Tabelle X.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
21	10,5	Opium	35	150 ccm 25%ige Zuckerlösung + Pankr.-Extr.	250	—	6,65	6,65	—	starke Redukt.	V. mesenterica
22	15,0	„	35	150 ccm 25%ige Zuckerlösung + Pankr.-Extr.	500	—	Spuren	—	0,4	0,55	do.
23	22,0	„	45	360 ccm 25%ige Zuckerlösung + Pankr.-Extr.	670	17,28	24,12	6,84	0,43	—	do.

Von diesen Versuchen zeigen 21 und 23 eine ungewöhnlich große Zunahme des Leberglykogens, fast um 7 g, so daß man hier nicht umhin kann, an eine Beförderung der Glykogenbildung und Deponierung durch Bestandteile der zugesetzten Pankreassubstanz zu denken. Um so auffallender er-

scheint Versuch 22, bei welchem nur eine minimale Zunahme stattfand. Bei dieser Sachlage konnte man daran denken, ob nicht der Funktionszustand des Pankreas im Momente der Entnahme von Bedeutung sei; es könnte bei lebhafter Tätigkeit der Drüse zur Verdauungszeit relativ viel der unbekannten wirksamen Substanz (inneres Sekret) in dem Organe zu finden sein. Um einen Anhaltspunkt zu gewinnen, wurden noch zwei weitere Versuche angeschlossen, wobei das verwendete Pankreas einmal einem in Verdauung befindlichen Tiere, das andere Mal einem hungernden entnommen wurde.

Tabelle XI.

Zahl des Versuches	Gewicht des Hundes kg	Narkose	Dauer des Versuches Min.	Art des Injektionsmateriales	Gewicht der Leber g	Glykogen vorher g	Glykogen nachher g	Zunahme g	Blutzucker %	Harnzucker %	Injektionsstelle
43	7,5	Chloroform-Äther	60	450 ccm 2%ige Zuckerlösung + Pankr.-Extr.	300	13,65	17,24	3,59	0,2	2,86	V. mesenterica, Verdauungs-Pankr.
44	8,0	do.	50	350 ccm 2%ige Zuckerlösung + Pankr.-Extr.	340	15,02	14,28	—	0,26	kein Urin	V. mesenterica, Hunger-Pankreas

Von diesen beiden Versuchen zeigt tatsächlich der erste (Verdauungspankreas) eine beträchtliche Zunahme, der zweite eine mäßige Abnahme. Da bei diesen Versuchen (was auch zur Erklärung der Abnahme dienen kann), nicht mit 25%iger, sondern mit 2%iger Zuckerlösung gearbeitet wurde, erscheint die Vermehrung im ersten Falle als sehr reichlich. Obwohl diese Versuche für die Annahme zu sprechen scheinen, daß der Funktionszustand des Pankreas von Wichtigkeit sei, wollen wir gerade in dieser Beziehung wegen der geringen Anzahl unserer Versuche die Frage noch nicht als entschieden ansehen.

Wohl aber muß es als höchst auffallend bezeichnet werden, daß bei den Versuchen mit Zusatz von Pankreassubstanz eine besonders reichliche Glykogenablagerung beobachtet werden konnte, und somit zum ersten Male experimentell ein Hinweis auf die Bedeutung des Pankreas für die Glykogenbildung in der Leber gegeben erscheint. Es bleibt dabei zunächst unentschieden,

ob es sich um Begünstigung der Deponierung oder um Hemmung der Ausscheidung des Glykogens handelt.

Schlußsätze.

Beim Hunde läßt sich durch intravenöse Injektion von Zuckerlösungen ein reichlicher Glykogenansatz in der Leber erzielen. Vorbedingung für das Gelingen des Versuches ist das Fernhalten jeden cerebralen Reizes — sei es durch Narkotica (besonders Opium) oder durch Unterbrechung der zentrifugalen zur Leber führenden Bahnen. Der Verdauungszustand des Tieres ist von keinem wesentlichen Einfluß. Zufuhr durch Pfortaderäste wirkt günstiger als durch Körpervenen. Der Zusatz von Pankreasextrakten, besonders aus funktionierendem Pankreas, zur Zuckerlösung ergab besonders reichliche Glykogenbildung.

Ein weiterer Beitrag zur Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode[1]).

Von

Rinji Watanabe.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 20. März 1912.)

Vor einigen Jahren hat J. Shimidzu[2]) die Brauchbarkeit der Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode nach verschiedenen Richtungen hin nachgeprüft und ihre großen Vorzüge auf weitem Umfange bestätigt.

Shimidzu stellte zunächst die wichtige Tatsache fest, daß der Fettgehalt tierischen Materiales nur dann ganz richtig ermittelt werden kann, wenn dasselbe in frischem, wasserhaltigem Zustande direkt nach Kumagawa-Suto verseift wird, weil beim Trocknen und Pulverisieren desselben das darin enthaltene Fett infolge der Oxydation mehr oder minder zersetzt wird. Daher empfiehlt Shimidzu, zur exakten Fettbestimmung womöglich frisches Material direkt zu verseifen. Shimidzu hat Herzmuskel, Fleisch, Leber, Nieren und Blut von Pferden in den Kreis seiner Untersuchungen herangezogen. Hierbei ist Shimidzu zu folgenden Resultaten gelangt. Während bei den ersten vier Organen die direkte Verseifung sehr glatt verlief und dementsprechend gute Resultate ergab, eignete sich dieselbe für das Blut nicht. Das Blutfett ließ sich viel zweckmäßiger und richtiger durch Alkoholextraktion des Blutes mit nachfolgender Verseifung des Alkoholextraktes feststellen, als durch direkte Verseifung. Es wäre nun sehr erwünscht, die neue Methode systematisch auch auf diejenigen Organe und Gewebe, die Shimidzu nicht untersucht hat, auszuprobieren.

In bezug auf die Aufbewahrung des Materiales empfiehlt Shimidzu das einfache Hineinlegen der frischen wasserhaltigen Einzelproben in die

---

1) Kumagawa und Suto, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes usw. Diese Zeitschr. 8, 218, 1908.

2) J. Shimidzu, Ein Beitrag zur Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode. Diese Zeitschr. 28, 237, 1910.

Verseifungslauge als die beste und rationellste Methode. Shimidzu hat gleiche Mengen gut gemischten Fleischbreies in Verseifungslauge hineingelegt und nach 23 Tagen durch direkte Verseifung ebensoviel Fettsäuren wiedergefunden, wie bei den Kontrollproben ohne Aufbewahrung. Es ist auch wünschenswert, diesen wichtigen Punkt noch einmal zu prüfen.

Ich habe im folgenden auf Veranlassung von Professor M. Kumagawa einerseits die Verseifungsmethode mit Ausnahme des Blutes auf fast alle Organe und Gewebe eines Kaninchens von 3,26 kg Körpergewicht nachgeprüft. Andererseits habe ich die Aufbewahrungsversuche des Fleisches in Verseifungslauge über 200 Tage ausgedehnt, um die Richtigkeit der Shimidzuschen Angabe zu prüfen. Bei der Gelegenheit habe ich einige pathologische Flüssigkeiten sowie Frösche in toto durch Verseifung auf ihren Fettgehalt untersucht.

In der folgenden Tabelle sind die Resultate der Fettbestimmungen verzeichnet, welche sämtlich, nach der direkten Verseifungsmethode ausgeführt, sehr glatt vor sich gingen. Wie

Tabelle I.

Fettbestimmung verschiedener Organe und Gewebe eines Kaninchens (3260 g schwer).

Art der Organe und Gewebe	Substanz feucht	Petroläther-extrakt		Unverseifbare Substanz (Cholesterin + X)		Hochmolekulare Fettsäuren	
	g	g	%	g	bezogen auf Petrolätherextrakt %	g	%
1. Knochen mit Mark:							
a) Tibia u. Fibula (r.) . .	10,40	1,5948	15,33	0,0146	0,986	1,5802	15,20
b) Femur r.	12,55	1,8190	14,50	0,0196	1,077	1,7994	14,34
c) „ l.	12,50	1,8202	14,56	0,0210	1,150	1,7992	14,40
2. Haut mit Haaren	5,70	0,1282	2,25	0,0232	18,09	0,1050	1,84
	4,86	0,1190	2,45	0,0274	23,03	0,0916	1,89
Dieselbe an anderer Stelle . .	10,15	0,4016	3,96	0,0556	13,84	0,3960	3,41
3. Muskelbrei	20,00	0,6610	3,31	0,0204	3,09	0,6406	3,20
	20,00	0,6612	3,31	0,0198	3,00	0,6414	3,21
4. Leberbrei	20,00	0,5240	2,62	0,0668	12,75	0,4572	2,29
	20,00	0,5236	2,62	0,0688	13,14	0,4548	2,27
5. Niere r.	12,20	0,4524	3,71	0,0516	11,41	0,4008	3,29
„ l.	12,60	0,4926	3,89	0,0504	10,23	0,4422	3,50
6. Lunge (beide zusammen) . .	23,85	0,5630	2,36	0,0938	16,66	0,4692	1,97
7. Herzmuskulatur	11,60	0,5794	5,00	0,0306	5,28	0,5488	4,73
8. Milz	3,40	0,0792	2,33	0,0126	15,92	0,0666	1,96
9. Gedärmestück mit Schleimhaut	15,80	0,6620	4,19	0,3950	66,22	0,2670	1,65
10. Nebennieren (beide zusammen)	0,70	0,1892	27,04	0,1006	53,15	0,0886	12,66

Shimidzu empfiehlt, habe ich alle Fettbestimmungen in frischen, wasserhaltigen Organen ausgeführt, indem je 5 bis 20 g Substanz durch Zusatz von 7 ccm gesättigter Natronlauge (1,5 D) mit bedeckter Glasglocke 2 Stunden auf dem Wasserbade zerkocht wurden. Das weitere Verfahren geschah genau nach der Vorschrift von Kumagawa-Suto.

Hieraus geht zur Genüge hervor, daß sich fast alle Organe und Gewebe der Tiere außer Blut und Gehirnsubstanz durch direkte Verseifung sehr bequem und ganz exakt auf ihren Fettgehalt untersuchen lassen. Von der Zusammensetzung der Nebennieren ist der Umstand uns sehr auffällig, daß dieselben nach der Verseifung über 27°/₀ des feuchten Organes Petrolätherextrakt lieferten und dasselbe über die Hälfte in unverseifbaren Substanzen bestand. Sehr reich an unverseifbaren Substanzen sind ferner die Petrolätherextrakte von Gedärmen (über 66°/₀), dann folgen diejenigen von Haut, Lungen, Milz, Leber und Nieren. Bei der Verseifung von Knochen bildete sich am Ende ein weißer, sandiger Bodensatz von Calciumoxyd, welcher sich bei der folgenden Überneutralisation mit Säure glatt auflöste und die Ätherextraktion in keiner Hinsicht störte.

Wie in der Tabelle I angegeben ist, habe ich, ausgenommen Blut und Gehirnsubstanz, fast sämtliche tierische Organe und Gewebe nach dem Kumagawa-Sutoschen Verfahren mit gutem Erfolge auf ihren Fettgehalt untersucht. Wie man den Fettgehalt der Blutbestandteile nach Kumagawa-Suto zweckmäßig bestimmen kann, darüber hat Shimidzu in eingehender Weise berichtet. Über die Fettbestimmung der Gehirnsubstanz hat N. Masuda[1]) schon publiziert. Ich habe mich bei der Gelegenheit auch damit beschäftigt. Da indessen die Trennung der unverseifbaren Substanzen nicht auf erwünschte Weise glatt vor sich ging, so wird das Resultat erst nach der weiteren Untersuchung publiziert.

Fettbestimmungen in pathologischen Flüssigkeiten.

Im folgenden habe ich einige tierische Flüssigkeiten pathologischer Abstammung auf ihren Fettgehalt untersucht, indem je 50 bis 100 ccm von Bauchflüssigkeit resp. Pleuraerguß bei

[1]) N. Masuda, Analyse des Gehirns. Diese Zeitschr. 28, 161, 1910.

alkalischer Reaktion auf ca. 20 bis 30 ccm eingeengt und durch Zusatz von 7 ccm gesättigter Natronlauge (1,5 D) mit bedeckter Glasglocke auf dem Wasserbade 2 Stunden zerkocht wurden. Die Resultate sind in folgenden Tabellen verzeichnet.

Tabelle II.

Pleuraerguß.

Nr.	ccm	Petroläther-extrakt g	Unverseifbare Substanz (Cholesterin + X) g	Hochmolekulare Fettsäuren g
1a)	50,0	0,0462	0,0154	0,0308
b)	50,0	0,0484	0,0164	0,0320
	Mittel . .	0,0473	0,0159	0,0314
2a)	100,0	0,0462	0,0104	0,0358
b)	100,0	0,0460	0,0100	0,0360
	Mittel . .	0,0461	0,0102	0,0359

Chylöse Bauchflüssigkeit.

Nr.	ccm	Spez. Gew.	Petroläther-extrakt g	Unverseifbare Substanz (Cholesterin + X) g	Hoch-molekulare Fettsäuren g
1a)	100,0	1024	0,4116	0,0776	0,3340
b)	100,0	1024	0,4140	0,0780	0,3360
	Mittel . .	—	0,4128	0,0778	0,3350
2a)	100,0	1012	0,1696	0,0318	0,1378
b)	100,0	1012	0,1706	0,0308	0,1394
c)	100,0	1012	0,1700	0,0318	0,1382
	Mittel . .	—	0,1700	0,0315	0,1385

Die irekte Verseifung verlief hier sehr glatt. Die fast genau übereinstimmenden Zahlen sind wohl Beweis dafür, daß die Resultate exakt genug sind.

Totale Fettbestimmung kleiner Tiere (Frösche).

In der Tabelle III sind die Resultate der Fettbestimmungen verzeichnet, welche durch direkte Verseifung einzelner Frösche (Rana esculenta) in toto gewonnen worden sind. Diese Versuche sind aus der Erwägung angestellt worden, daß die Fettbestimmungen der Frösche für manche Stoffwechseluntersuchungen, namentlich zur Entscheidung der Fettbildungsfrage aus Eiweiß,

z. B. bei Phosphorvergiftung[1]), in den Vordergrund treten könnten.

Tabelle III.
Fettbestimmung der Frösche (Rana esculenta) in toto.

Körpergewicht	Petrolätherextrakt		Unverseifbare Substanz (Cholesterin + X)		Hochmolekulare Fettsären	
g	g	%	g	bezogen auf Petrolätherextrakt %	g	%
11,75	0,2762	2,331	0,0396	14,33	0,2366	1,98
15,95	0,1906	1,194	0,0420	22,03	0,1486	0,93
10,75	0,0988	0,919	0,0266	26,92	0,0722	0,67

Für je einen Frosch wurden 7 ccm gesättigter Natronlauge (1,5 D) zugesetzt und wie sonst auf dem Wasserbade verseift. Die Verseifung ging ganz glatt vor sich. Am Ende sammelte sich am Boden des Becherglases ein weißer, sandiger Kalkniederschlag, der, wie bei der Knochenverseifung, in keiner Hinsicht die weitere Operation störte. Wie die tabellarischen Daten zeigen, sind die Fettmengen einzelner Frösche großen individuellen Schwankungen unterworfen.

Untersuchungen über die Aufbewahrung des Materials.

Von Sehnen, Blutgefäßen und dgl. womöglich befreites Pferdefleisch wurde mehrmals durch eine Hackmaschine getrieben und gut durchgemischt. Hiervon wurden mehrere Proben in Bechergläsern in Mengen von 3 bis 5 g genau abgewogen. Zu allen Proben wurden 7 ccm gesättigter Natronlauge (1,5 D) und etwa 20 ccm Wasser zugesetzt und gut gemischt. Ein Teil davon wurde als Kontrollen direkt verseift. Die übrigen Proben wurden während der gewählten Zeit in einem großen, mit Deckel versehenen Glasbehälter aufbewahrt. Die Zeit der Aufbewahrung erstreckte sich vom 21. Mai bis zum 28. Dezember 1910. Die längste Aufbewahrungszeit hat demnach 220 Tage gedauert. Die übrigen Proben wurden in der Zwischenzeit verseift, wie in der Tabelle angegeben.

[1]) Diese Untersuchungen sind vor den Shibataschen Phosphorversuchen abgeschlossen worden.

Tabelle IVa.

Aufbewahrungsversuch des Pferdefleischbreies in Verseifungslauge.

Datum	Fleichbrei	Petrolätherextrakt		Unverseifbare Substanz (Cholesterin + X)		Hochmolekulare Fettsäuren	
	g	g	%	g	bezogen auf Petrolätherextrakt %	g	%
21. V.	4,775	0,3648	7,65	0,0086	2,357	0,3562	7,459
21. V.	4,969	0,3802	7,64	0,0092	2,419	0,3710	7,467
21. V.	5,085	0,3904	7,678	0,0092	2,357	0,3812	7,496
Mittel	—	—	7,656	—	2,377	—	7,474
27. VI.	4,7978	0,3676	7,663	0,0072	1,958	0,3604	7,512
27. VI.	4,5170	0,3412	7,554	0,0076	2,227	0,3336	7,385
28. VI.	2,9008	0,2172	7,489	0,0050	2,302	0,2122	7,354
28. VI.	4,5774	0,3538	7,731	0,0072	2,034	0,3466	7,572
Mittel	—	—	7,609	—	2,130	—	7,456
24. XI.	5,0108	0,3932	7,847	0,0092	2,34	0,3840	7,645
24. XI.	4,8630	0,3888	7,995	0,0098	2,52	0,3790	7,793
Mittel	—	—	7,921	—	2,43	—	7,719
5. XII.	3,0302	0,2392	7,89	0,0052	2,174	0,2342	7,731
5. XII.	4,9352	0,3702	7,50	0,0086	2,324	0,3616	7,328
Mittel	—	—	7,695	—	2,249	—	7,529
28. XII.	3,002	0,2290	7,628	0,0054	2,423	0,2236	7,449
28. XII.	4,938	0,3830	7,757	0,0092	2,402	0,3738	7,567
Mittel	—	—	7,692	—	2,412	—	7,508

Um die Resultate anschaulich zu machen, habe ich die Tabelle in IVb reduziert.

Tabelle IVb.
Übersichtstabelle von IVa.

Prozentischer Vergleich von Petrolätherextrakten, unverseifbaren Substanzen und hochmolekularen Fettsäuren.

Tage der Aufbewahrung	Petrolätherextrakt	Cholesterin + X	Hochmolekulare Fettsäuren
0	100	100	100
38	99,4	89,6	99,8
188	103,5	102,2	103,3
199	100,5	94,6	100,7
220	100,5	101,5	100,4

Die einzelnen Werte in 188 tägiger Aufbewahrung sind aus unbekannten Gründen etwas größeren Schwankungen unterworfen. Daß die Zahlen für die unverseifbaren Substanzen im allgemeinen nicht gut übereinstimmten, geht wohl daraus her-

vor, daß die absolute Menge derselben an und für sich sehr klein (5 bis 7 mg) ist. Sieht man von diesen beiden Abweichungen ab, so stimmen die übrigen Werte derart gut überein, daß man bei solchen Untersuchungen noch bessere Resultate wohl nicht verlangen kann. Demnach konnte ich die Shimidzusche Angabe vollständig bestätigen und es steht nunmehr fest, daß das frische, wasserhaltige Material beim Aufbewahren in Verseifungslauge nichts von seinem Fettgehalte einbüßt. Die etwaigen Abweichungen der einzelnen Fettwerte beruhen nicht auf der Art und Weise der Aufbewahrung selber, sondern aller Wahrscheinlichkeit nach darauf, daß die Verteilung des Fettes im Gesamtfleischbrei nicht vollkommen gleichmäßig genug ist, wie darüber Tamura in der nachfolgenden Abhandlung eingehend berichtet.

Zusammenfassung.

1. Die meisten tierischen Organe und Gewebe lassen sich im frischen, wasserhaltigen Zustande durch direkte Verseifung nach Kumagawa-Suto ganz glatt und exakt auf ihren Fettgehalt untersuchen. Mit gutem Erfolge sind von mir untersucht worden: Fleisch, Herz, Leber, Milz, Niere, Nebenniere, Gedärme, Knochen, Haut mit Haaren, Ascitesflüssigkeit, Pleuraerguß und Frösche in toto. Eine Ausnahmestellung nehmen Blut, defibriniertes Blut, Blutplasma und Blutserum nach Shimidzu ein. Alle diese Bestandteile lassen sich viel zweckmäßiger und richtiger durch Alkoholextraktion mit nachfolgender Verseifung des Alkoholextraktes auf ihren Fettgehalt ermitteln. Auch die Fettbestimmung der Gehirnsubstanz erfolgt nach meiner Untersuchung nach diesem zweiten Verfahren besser. Hierüber wird indes, wie gesagt, erst später publiziert.

2. Sehr auffällig ist der Befund, daß die Nebennieren nach der Verseifung über 27 % des frischen Organs Petrolätherextrakte liefern und über die Hälfte davon aus unverseifbaren Substanzen besteht.

3. In bezug auf die Aufbewahrung tierischen Materials wurde die Angabe von Shimidzu von mir vollkommen bestätigt, daß der frische Organbrei in Verseifungslauge eingelegt dauernd nichts von seinem Fettgehalt verliert.

Fettverlust beim Trocknen des Fleisches.

Von

Munemichi Tamura.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 20. März 1912.)

Alle bisherigen Fettbestimmungsmethoden, die auf Extraktion beruhen, können nicht anders als bei getrockneten Pulvermassen angewendet werden. Man weiß deshalb nicht, ob der Fettgehalt des frischen Materials auch nach dem Trocknen und Pulverisieren desselben unverändert bleibt. Da sich die Verseifungsmethode von Kumagawa-Suto ebenso gut beim frischen wie beim getrockneten Pulver anwenden läßt, so hat sich Y. Shimidzu[1]) mit dieser Frage schon einmal beschäftigt. Shimidzu hat dabei gefunden, daß der Fettverlust, wenn das Material in kleinerer Menge (gegen 100 g) schnell getrocknet wird, nur einige Prozente beträgt, daß derselbe dagegen ca. 10% beträgt, wenn das Material in etwas größerer Menge (gegen 400 g) verarbeitet und zum vollständigen Austrocknen desselben längere Zeit in Anspruch genommen wird. Da dieser Befund für Stoffwechselfragen u. dergl. große Tragweite hat, und ferner Shimidzu gerade für größere Fleischmassen nur wenig Trockenversuche ausgeführt hat, so habe ich auf Veranlassung von Professor M. Kumagawa diese Untersuchungen auf etwas breiterer Basis von neuem in Angriff genommen.

Zu diesen Versuchen wurde ausschließlich ganz frisches, fettarmes Pferdefleisch verwendet, das nach der Entfernung

[1]) Y. Shimidzu, Ein Beitrag zur Kumagawa-Sutoschen Fettbestimmungsmethode. Diese Zeitschr. 28, 237, 1910.

grober Bindegewebsstücke, Blutgefäße u. dergl. 3mal durch die Hackmaschine getrieben und zu einem ganz gleichmäßigen Brei gut durchgemischt wurde. Da es sich um einen genauen Vergleich der Resultate der Verseifung vom frischen Fleischbrei und dem getrockneten Pulver ein und desselben Fleischbreies handelte, so mußte ich in jeder Serie das Material von neuem vorbereiten. Daher ist der für jede Serie verwendete, mit römischen Nummern bezeichnete Fleischbrei von verschiedener Abstammung. Das Trocknen des Fleischbreies wurde in jeder Versuchsreihe auf zweierlei Weise ausgeführt. Einmal wurde der Brei mit Alkoholzusatz, dann ohne Alkoholzusatz in einer Porzellanschale auf dem kochenden Wasserbade getrocknet. Während der Trocknung wurde der Brei ab und zu mit einem Glasstab durchgemischt. Die nach der genügenden Trocknung an der Schale haftenden Reste wurden mit ein wenig heißem Alkohol aufgelöst. Dieser wurde durch Zusatz von wenig Pulver abgesaugt und das letztere von neuem getrocknet. Durch nochmalige Wiederholung dieser Prozedur ließen sich die Restmassen bei den mit Alkoholzusatz getrockneten Proben so vollständig von der Schale entfernen, daß an derselben kein Teilchen mehr haften bleibt. Bei den ohne Alkoholzusatz getrockneten Proben klebten sich die trockenen Fleischreste so fest an der Schale an, daß dieselben erst mittels eines Metallspatels abgekratzt und dann die oben erwähnte Prozedur mehrmals wiederholt werden mußte. Die Pulverisation der getrockneten Fleischmassen wurde stets so weit getrieben, daß die ganze Masse durch ein Sieb von 0,25 qmm Maschenweite ging. Die Wägung der ganzen Pulvermasse sowie der einzelnen Proben geschah erst nach 24 Stunden, nachdem das Pulver lufttrocken geworden war. Die Fettbestimmung wurde genau nach der Vorschrift von Kumagawa-Suto ausgeführt. Alle übrigen Einzelheiten sind in die Tabellen eingetragen.

Versuchsreihe I.

Trockenversuch an je 100 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

5 Proben von je 10 g
2 „ „ „ 100 g

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chole-sterin[1]) g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %
1	0,2416	0,0152	0,2264	2,264	2,368
2	0,2404	0,0150	0,2254	2,254	2,358
3	0,2390	0,0142	0,2248	2,248	2,352
4	0,2406	0,0144	0,2262	2,262	2,366
5	0,2404	0,0148	0,2256	2,256	2,360
Summa .	1,2020	0,0736	1,1284	—	—
Mittel .	0,2404	0,0147	0,2257	2,257	2,361

Hiernach wurde der Fettgehalt des Fleischbreies in dieser Versuchsreihe zu **2,361%** bestimmt.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

100 g Brei + 100 ccm Alkohol (95%).

Dauer der Trocknung: $1^2/_3$ Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 28,72 g.

Für jede Verseifung wurden 2,872 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

In den folgenden Tabellen sind die prozentischen Werte auf den wasserhaltigen Brei berechnet. Die prozentischen Verluste in der letzten Kolonne beziehen sich auf den durch direkte Verseifung des Breies gewonnenen Mittelwert des Fettgehaltes, indem derselbe gleich 100 gesetzt wurde.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2402	0,0154	0,2248	2,248	2,351	—
2	0,2414	0,0164	0,2250	2,250	2,354	—
3	0,2408	0,0158	0,2250	2,250	2,354	—
Summa .	0,7224	0,0476	0,6748	—	—	—
Mittel .	0,2408	0,0159	0,2249	2,249	2,353	0,34

Der Fettverlust betrug demnach **0,34%**.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

100 g Brei.

[1]) Mit der Bezeichnung „Cholesterin" wurden „unverseifbare Substanzen" überhaupt gemeint.

Dauer der Trocknung: 2 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 28,80 g.

Für jede Verseifung wurden 2,880 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2354	0,0152	0,2202	2,202	2,303	—
2	0,2346	0,0150	0,2196	2,196	2,297	—
3	0,2356	0,0152	0,2204	2,204	2,305	—
Summa .	0,7056	0,0454	0,6602	—	—	—
Mittel .	0,2352	0,0151	0,2201	2,201	2,302	2,50

Beim Trocknen des Fleischbreies (100 g) ohne Alkoholzusatz betrug der Fettverlust 2,5%.

Versuchsreihe II.

Trockenversuch an je 200 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

5 Proben von je 10 g
2 „ „ „ 200 g

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petrolätherextrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,3652	0,0114	0,3538	3,538	3,701
2	0,3668	0,0102	0,3466	3,566	3,730
3	0,3674	0,0110	0,3564	3,564	3,728
4	0,3656	0,0102	0,3554	3,554	3,717
5	0,3678	0,0100	0,3578	3,578	3,742
Summa .	1,8328	0,0528	1,7800	—	—
Mittel .	0,3666	0,0106	0,3560	3,560	3,724

Der Fettgehalt des Fleischbreies betrug demnach 3,724%.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

200 g Brei + 200 ccm Alkohol (95%).

Dauer der Trocknung: $2^1/_2$ Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 58,74 g.

Für jede Verseifung wurde 2,937 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,3672	0,0118	0,3554	3,554	3,717	—
2	0,3670	0,0118	0,3552	3,552	3,715	—
3	0,3680	0,0122	0,3558	3,558	3,722	—
Summa .	1,1022	0,0358	1,0664	—	—	—
Mittel .	0,3674	0,0119	0,3555	3,555	3,719	0,13

Der Fettverlust beim Trocknen mit Alkoholzusatz betrug hier 0,13 %.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

200 g Brei.

Dauer der Trocknung: 2 3/4 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 58,92 g.

Für jede Verseifung wurden 2,946 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,3623	0,0110	0,3513	3,513	3,675	—
2	0,3625	0,0112	0,3513	3,513	3,675	—
3	0,3635	0,0114	0,3521	3,521	3,683	—
Summa .	1,0883	0,0336	1,0547	—	—	—
Mittel .	0,3628	0,0112	0,3516	3,516	3,678	1,24

Ohne Alkoholzusatz steigerte sich der Fettverlust beim Trocknen hier auf 1,24 %.

Versuchsreihe III.

Trockenversuch an je 300 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

6 Proben von je 10 g
2 „ „ „ 300 g
2 „ „ „ 100 g

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %
1	0,2256	0,0140	0,2116	2,116	2,213
2	0,2244	0,0132	0,2112	2,112	2,209
3	0,2296	0,0144	0,2152	2,152	2,251
4	0,2304	0,0142	0,2162	2,162	2,261
5	0,2252	0,0136	0,2116	2,116	2,213
6	0,2222	0,0132	0,2090	2,090	2,186
Summa .	1,3574	0,0826	1,2748	—	—
Mittel .	0,2262	0,0138	0,2125	2,125	2,223

Der Fettgehalt dieses Fleischbreies betrug 2,223 %.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

B. 1a.

300 g Brei + 300 ccm Alkohol (95 %)
Dauer der Trocknung: 4 Stunden.
Gewonnene Pulvermenge: 80,45 g.
Für jede Verseifung wurden 2,6817 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2234	0,0132	0,2102	2,102	2,199	—
2	0,2232	0,0134	0,2098	2,098	2,195	—
3	0,2238	0,0134	0,2104	2,104	2,201	—
Summa .	0,6704	0,0400	0,6304	—	—	—
Mittel .	0,2235	0,0133	0,2101	2,101	2,198	1,12

Bei dieser Versuchsreihe betrug der Fettverlust auch mit Alkoholzusatz 1,12 %.

B. 1b.

100 g Brei + 100 ccm Alkohol (95 %).
Dauer der Trocknung: $1\,^3/_4$ Stunden.
Gewonnene Pulvermenge: 27,40 g.
Für jede Verseifung wurden 2,740 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2258	0,0138	0,2120	2,120	2,218	—
2	0,2260	0,0140	0,2120	2,120	2,218	—
3	0,2256	0,0134	0,2122	2,122	2,220	—
Summa .	0,6774	0,0412	0,6362	—	—	—
Mittel .	0,2258	0,0137	0,2121	2,121	2,219	0,18

Wurden von diesem Fleischbrei nur 100 g mit Alkoholzusatz getrocknet, so reduzierte sich der Fettverlust auf **0,18%**.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

B. 2a.

300 g Brei.

Dauer der Trocknung: 4 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 80,32 g.

Für jede Verseifung wurden 2,6773 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2174	0,0114	0,2069	2,060	2,155	—
2	0,2174	0,0118	0,2056	2,056	2,151	—
3	0,2176	0,0124	0,2052	2,052	2,146	—
Summa .	0,6424	0,0356	0,6168	—	—	—
Mittel .	0,2175	0,0119	0,2056	2,056	2,151	3,24

Ohne Alkoholzusatz steigerte sich der Fettverlust auf **3,24%**.

B. 2b.

100 g Brei.

Dauer der Trocknung: 2 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 27,42 g.

Für jede Verseifung wurde 2,742 g Pulver entsprechend 10 g Brei abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2236	0,0128	0,2108	2,108	2,205	—
2	0,2234	0,0124	0,2110	2,110	2,207	—
3	0,2238	0,0122	0,2116	2,116	2,213	—
Summa .	0,6708	0,0374	0,6334	—	—	—
Mittel .	0,2236	0,0125	0,2111	2,111	2,208	0,68

Wurden 100 g von diesem Fleischbrei ohne Alkoholzusatz getrocknet, so betrug der Fettverlust beim Trocknen 0,68 %.

Versuchsreihe IV.

Trockenversuch an je 400 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

6 Proben von je 10 g
2 „ „ „ 400 g

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chole-sterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %
1	0,2094	0,0144	0,1950	1,950	2,040
2	0,2075	0,0138	0,1937	1,937	2,026
3	0,2089	0,0140	0,1949	1,949	2,039
4	0,2064	0,0120	0,1944	1,944	2,033
5	0,2072	0,0142	0,1930	1,930	2,019
6	0,2098	0,0152	0,1946	1,946	2,036
Summa .	1,2492	0,0836	—	—	—
Mittel .	0,2082	0,0139	0,1943	1,943	2,032

Der Fettgehalt dieses Fleischbreies betrug 2,032 %.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

400 g Brei + 400 ccm Alkohol (95 %).

Dauer der Trocknung: 6 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 110,5 g.

Für jede Verseifung wurden 2,7625 g Pulver entsprechend 10 g Brei genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2096	0,0160	0,1936	1,936	2,025	—
2	0,2068	0,0140	0,1928	1,928	2,017	—
3	0,2078	0,0152	0,1926	1,926	2,015	—
Summa .	0,6242	0,0452	0,5790	—	—	—
Mittel .	0,2081	0,0151	0,1930	1,930	2,019	0,64

Mit Alkoholzusatz betrug der Fettverlust beim Trocknen hier 0,64%.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

400 g Brei.

Dauer der Trocknung: $6^1/_2$ Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 111,1 g.

Für jede Verseifung wurden 2,7775 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2064	0,0142	0,1922	1,922	2,011	—
2	0,2068	0,0142	0,1926	1,926	2,015	—
3	0,2068	0,0144	0,1924	1,924	2,013	—
Summa .	0,6200	0,0428	0,5772	—	—	—
Mittel .	0,2067	0,0143	0,1924	1,924	2,013	0,94

Ohne Alkoholzusatz betrug der Fettverlust beim Trocknen 0,94%.

Versuchsreihe V.

Trockenversuch an je 500 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

9 Proben von je 10 g,
2 „ „ „ 500 g.

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2865	0,0142	0,2723	2,723	2,848
2	0,2813	0,0138	0,2675	2,675	2,798
3	0,2837	0,0142	0,2695	2,695	2,819
4	0,2815	0,0136	0,2679	2,679	2,802
5	0,2808	0,0136	0,2672	2,672	2,795
6	0,2819	0,0132	0,2689	2,689	2,811
7	0,2842	9,0138	0,2704	2,704	2,828
8	0,2822	0,0138	0,2684	2,684	2,809
9	0,2823	0,0136	0,2687	2,687	2,811
Summa .	2,5444	0,1238	2,4206	—	—
Mittel . .	0,2827	0,0138	0,2689	2,689	2,813

Der Fettgehalt dieser Fleischreihe betrug 2,813%.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

500 g Brei + 500 ccm Alkohol (95 %).

Dauer der Trocknung: 6 1/2 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 144,8 g.

Für jede Verseifung wurden 2,896 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2805	0,0144	0,2661	2,661	2,783	—
2	0,2799	0,0142	0,2657	2,659	2,779	—
3	0,2790	0,0138	0,2652	2,652	2,774	—
Summa .	0,8394	0,0424	0,7970	—	—	—
Mittel .	0,2798	0,0141	0,2657	2,657	2,779	1,21

Der Fettverlust beim Trocknen betrug hier **1,21 %**.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

500 g Brei.

Dauer der Trocknung: 7 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 143,6 g.

Für jede Verseifung wurden 2,872 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2752	0,0142	0,2610	2,610	2,730	—
2	0,2736	0,0138	0,2598	2,598	2,718	—
3	0,2738	0,0138	0,2600	2,600	2,720	—
Summa .	0,8226	0,0418	0,7808	—	—	—
Mittel .	0,2742	0,0139	0,2603	2,603	2,723	3,19

Der Fettverlust beim Trocknen betrug hier **3,19 %**.

Versuchsreihe VI.

Trockenversuch an je 600 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

8 Proben von je 10 g,
2 „ „ „ 600 g.

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2296	0,0126	0,2170	2,170	2,270
2	0,2290	0,0124	0,2166	2,166	2,266
3	0,2298	0,0130	0,2168	2,168	2,268
4	0,2296	0,0122	0,2174	2,174	2,274
5	0,2278	0,0122	0,2156	2,156	2,255
6	0,2294	0,0140	0,2154	2,154	2,253
7	0,2286	0,0122	0,2164	2,164	2,264
8	0,2288	0,0126	0,2162	2,162	2,261
Summa .	1,8326	0,1012	1,7314	—	—
Mittel . .	0,2291	0,0127	0,2164	2,164	2,264

Der Fettgehalt dieses Fleischbreies betrug **2,264 %**.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

600 g Brei + 600 ccm Alkohol (95 %).

Dauer der Trocknung: 7 1/2 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 173,2 g.

Für jede Verseifung wurden 2,8867 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2250	0,0134	0,2116	2,116	2,213	—
2	0,2244	0,0126	0,2118	2,118	2,215	—
3	0,2248	0,0124	0,2124	2,124	2,222	—
Summa .	0,6742	0,0384	0,6358	—	—	—
Mittel .	0,2247	0,0128	0,2119	2,119	2,216	2,12

Beim Trocknen büßte der Fettgehalt des Fleisches selbst mit Alkoholzusatz hier um **2,12 %** ein.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

600 g Brei.

Dauer der Trocknung: 8 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 173,9 g.

Für jede Verseifung wurden 2,8983 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2186	0,0120	0,2066	2,066	2,161	—
2	0,2194	0,0124	0,2070	2,070	2,165	—
3	0,2194	0,0122	0,2072	2,072	2,167	—
Summa .	0,6574	0,0366	0,6208	—	—	—
Mittel .	0,2191	0,0122	0,2069	2,069	2,164	4,42

Hiernach betrug der Fettverlust beim Trocknen ohne Alkoholzusatz 4,42%.

Versuchsreihe VII.

Trockenversuch an je 800 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleischbrei genau abgewogen:

8 Proben von je 10 g,
2 „ „ „ 800 g.

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %
1	0,2606	0,0130	0,2476	2,476	2,590
2	0,2578	0,0132	9,2446	2,446	2,557
3	0,2608	0,0136	0,2472	2,472	2,586
4	0,2580	0,0130	0,2450	2,450	2,563
5	0,2616	0,0142	0,2474	2,474	2,588
6	0,2620	0,0138	0,2482	2,482	2,596
7	0,2586	0,0136	0,2450	2,450	2,563
8	0,2602	0,0136	0,2466	2,466	2,579
Summa .	2,0796	0,1080	1,9716	—	—
Mittel . .	0,2600	0,0135	0,2465	2,465	2,578

Der Fettgehalt dieses Fleisches betrug 2,578%.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

800 g Brei + 800 ccm Alkohol (95%).

Dauer der Trocknung: 11 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 214,5 g.

Für jede Verseifung wurden 2,6812 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2548	0,0110	0,2438	2,438	2,550	—
2	0,2534	0,0102	0,2432	2,432	2,544	—
3	0,2540	0,0110	0,2430	2,430	2,542	—
Summa .	0,7622	0,0322	0,7300	—	—	—
Mittel .	0,2541	0,0107	0,2433	2,433	2,545	1,28

Der Fettverlust beim Trocknen betrug hier **1,28%**.

B. 2. Trocknung des Fleischbreies ohne Alkoholzusatz.

800 g Brei.

Dauer der Trocknung: 12 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 215,2 g.

Für jede Verseifung wurden 2,690 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2488	0,0114	0,2374	2,374	2,483	—
2	0,2492	0,0112	0,2380	2,380	2,489	—
3	0,2498	0,0116	0,2382	2,382	2,492	—
Summa .	0,7478	0,0342	0,7136	—	—	—
Mittel .	0,2493	0,0114	0,2379	2,379	2,488	3,49

Der Fettverlust beim Trocknen steigerte sich ohne Alkoholzusatz auf **3,49%**.

Versuchsreihe VIII.

Trockenversuch an 1000 g Fleischbrei.

Hierzu wurden von dem gut durchgemischten Fleichbrei genau abgewogen:

8 Proben von je 10 g,
1 Probe „ „ 1000 g,
1 „ „ „ 100 g.

A. Direkte Verseifung von je 10 g Brei.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %
1	0,2302	0,0156	0,2146	2,146	2,245
2	0,2366	0,0178	0,2188	2,188	2,289
3	0,2346	0,0172	0,2174	2,174	2,274
4	0,2348	0,0166	0,2182	2,182	2,282
5	0,2354	0,0174	0,2180	2,180	2,280
6	0,2358	0,0178	0,2180	2,180	2,280
7	0,2376	0,0190	0,2206	2,206	2,309
8	0,2436	0,0186	0,2250	2,250	2,354
Summa .	1,8886	0,1380	1,7506	—	—
Mittel . .	0,2361	0,0173	0,2188	2,188	2,289

Der Fettgehalt dieses Fleisches betrug demnach 2,289 %.

B. Verseifung des Fleisches nach der Pulverisierung.

B. 1. Trocknung des Fleischbreies mit Alkoholzusatz.

B. 1 a.

1000 g Brei + 1000 ccm Alkohol (95 %).

Dauer der Trocknung: 14 Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 279,2 g.

Für jede Verseifung wurden 2,792 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petrol-äther-extrakt g	Chol-esterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fett-säure × 1,046) %	Ver-lust %
1	0,2152	0,0122	0,2030	2,030	2,123	—
2	0,2164	0,0130	0,2034	2,034	2,128	—
3	0,2170	0,0142	0,2028	2,028	2,121	—
Summa .	0,6486	0,0394	0,6092	—	—	—
Mittel .	0,2162	0,0131	0,2031	2,031	2,124	7,21

Der Fettverlust steigerte sich hier trotz Alkoholzusatz auf 7,21 %.

B. 1 b.

100 g Brei + 100 ccm Alkohol (95 %)

Dauer der Trocknung: $1^5/_6$ Stunden.

Gewonnene Pulvermenge: 28,45 g.

Für jede Verseifung wurden 2,845 g Pulver, entsprechend 10 g Brei, genau abgewogen.

Probe Nr.	Petroläther-extrakt g	Cholesterin g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
1	0,2362	0,0186	0,2176	2,176	2,276	—
2	0,2348	0,0170	0,2178	2,178	2,278	—
3	0,2348	0,0166	0,2182	2,182	2,282	—
Summa .	0,7058	0,0522	0,6536	—	—	—
Mittel .	0,2353	0,0174	0,2179	2,179	2,279	0,44

Wurden von diesem Fleischbrei nur 100 g getrocknet, so reduzierte sich der Fettverlust auf **0,44%**.

Hiermit sind die Hauptversuche abgeschlossen. Im folgenden trage ich zum besseren Vergleiche der Resultate einige Daten auf Tabellen auf.

Zeitdauer bis zur vollständigen Austrocknung des Fleischbreies mit oder ohne Alkoholzusatz.

Nummer der Versuchsreihen	Menge des Fleischbreies g	Dauer der Trocknung in Stunden	
		mit Alkoholzusatz	ohne Alkoholzusatz
I	100	$1^2/_3$	2
III	100	$1^3/_4$	2
VIII	100	$1^5/_6$	—
II	200	$2^1/_2$	$2^3/_4$
III	300	4	4
IV	400	6	$6^1/_2$
V	500	$6^1/_2$	7
VI	600	$7^1/_2$	8
VII	800	11	12
VIII	1000	14	—

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, trocknet der Fleischbrei bei Alkoholzusatz stets etwas schneller, als ohne Alkoholzusatz. Indessen war die Ersparnis an Zeit durch Alkoholzusatz wider Erwarten nur sehr gering. So erforderten z. B. 800 g Fleischbrei zur vollständigen Austrocknung bei Alkoholzusatz 11 Stunden und ohne Alkoholzusatz 12 Stunden. Trotzdem ist der Alkoholzusatz beim Trocknen des Fleischbreies ganz unerläßlich insofern, weil hierdurch der Fettverlust beim

Trocknen bedeutend herabgesetzt wird, wie dies folgende Tabelle zeigt.

Fettverlust des Fleischbreies beim Trocknen mit und ohne Alkoholzusatz.

Nr. der Versuchsreihen	Menge des Fleischbreies g	Fettverlust in % des Gesamtfettes mit Alkoholzusatz	Fettverlust in % des Gesamtfettes ohne Alkoholzusatz
I	100	0,34	2,50
III	100	0,18	0,68
VIII	100	0,44	—
II	200	0,13	1,24
III	300	1,12	3,24
IV	400	0,64	0,94
V	500	1,21	3,19
VI	600	2,12	4,42
VII	800	1,28	3,49
VIII	1000	7,21	—

Demnach steht es zunächst fest, daß beim Trocknen und Pulverisieren des Fleischbreies stets mehr oder minder ein Fettverlust stattfindet, wie dies schon Shimidzu seinerseits erwiesen hat. Indessen ist dieser Fettverlust etwas geringer, als ihn Shimidzu damals gefunden hat; derselbe ist je nach den Umständen großen Schwankungen unterworfen. Im allgemeinen wächst der Fettverlust mit der Menge der zu trocknenden Fleischmasse. Was die absolute Größe des Fettverlustes betrifft, so ist derselbe bei der Trocknung mit Alkoholzusatz bedeutend geringer, als bei derjenigen ohne Alkoholzusatz. Wird der Fleischbrei in Mengen von je 100 bis 200 g unter Zusatz gleicher Volumina Alkohol (90%) auf dem Wasserbade schnell getrocknet, so bleibt der Fettverlust meist innerhalb eines halben Prozentes (Gesamtfet = 100 gesetzt). Wird die Fleischmenge über 300 g gesteigert, so wächst der Fettverlust des Fleischbreies auch bei Alkoholzusatz über 1%. Werden 700 bis 800 g Fleischbrei auf einmal getrocknet, so beträgt der Verlust bei Alkoholzusatz gegen 2%. Bei der Trocknung von 1000 g Fleisch betrug der Verlust selbst bei Alkoholzusatz über 7%. Hier hat außer der langen Trockendauer, die sich auf 2 Tage ausdehnte und 14 Stunden erforderte, wohl noch der Umstand zum Fettverluste beigetragen, daß zum voll-

ständigen Pulverisieren der getrockneten Masse viel Zeit (zirka $3^1/_2$ Stunden) in Anspruch genommen wird. Es könnte außerdem noch das Pulver selbst mehr oder weniger als Staub verloren gehen.

Wird das Fleisch ohne Alkoholzusatz getrocknet, so beträgt der Fettverlust selbst bei einer kleinen Menge von 100 bis 200 g über $1^0/_0$. Wird die Menge über 300 g gesteigert, so wächst der Fettverlust ohne Alkoholzusatz schnell über 3 bis $4^0/_0$.

Wodurch der so große Unterschied des Fettverlustes beim Trocknen des Fleischbreies mit oder ohne Alkoholzusatz bewirkt wird, läßt sich nicht leicht erklären. Daß der Alkoholzusatz das Trocknen der Fleischmasse vielfach begünstigt, hat vor allem Er. Voit[1]) hervorgehoben. Voit vermutete dabei, daß der Alkoholzusatz das Fleisch bei geringerer Temperatur rascher trocknet. Aus einen analogen Vermutung heraus, daß die Temperatur im Inneren des Fleischbreies während der Trocknung mit oder ohne Alkoholzusatz ganz verschieden sein könnte, habe ich eine vergleichende Temperaturmessung in Versuchsreihen von je 800 g Fleisch ausgeführt, indem ein Normalthermometer tief in die Mitte des Fleischbreies hineingesteckt wurde. Es hat sich dabei ergeben:

Temperatur im Inneren des Freischbreies bei der Trocknung von je 800 g.

Zeit		Mit Alkoholzusatz Grad	Ohne Alkoholzusatz Grad
Vormittags	8h	—	—
	9h	60	72
	10h	84	82
	11h	90	83
	12h	80	87
Nachmittags	1h	72	79
	2h	76	73
	3h	76	70
	4h	66	71
	5h	69	72
	6h	73	69
	7h	70	69
	8h	—	—

1) Er. Voit, Zeitschr. f. Biol. 35, 555.

Temperatur im Inneren des Fleisches bei der Trocknung von 100 g Brei mit Alkoholzusatz.

1. Tag		2. Tag	
Zeit	Temperatur Grad	Zeit	Temperatur Grad
Vormittags 8h	—	Vormittags 8h	—
9h	83	9h	76
10h	89	10h	75
10½h	95	11h	73
11h	92	12h	—
11½h	89		
12h	85		
Nachmittags 1h	83		
2h	78		
3h	78		
4h	78		
5h	74		
6h	78		

Wie die vergleichende Tabelle uns zeigt, konnte ich beim Trocknen mit oder ohne Alkoholzusatz während des ganzen Trockenverlaufes im allgemeinen keinen nennenswerten Temperaturunterschied verzeichnen. Demnach scheint weder Trockendauer noch Temperatur einen direkten Zusammenhang damit zu haben, daß der Fettverlust des Fleisches beim Trocknen mit Alkoholzusatz bedeutend herabgesetzt wird. Freilich bleibt hierzu wohl noch eine Erklärung offen, daß beim Trocknen der Alkoholdampf in Gemeinschaft mit dem Wasserdampf den direkten Kontakt des Luftsauerstoffes mit Fleischfett verhindert und das letztere so vor der Oxydation schützt. Daß indessen dauernde Einwirkung hoher Temperatur auf das getrocknete Fleischpulver doch einen großen Einfluß auf die Oxydation des darin enthaltenen Fettes ausübt, wird in den folgenden Versuchen gezeigt.

Wie dem auch sei, es wurde die Angabe von Shimidzu, daß der wahre Fettgehalt des tierischen Materiales nur durch direkte Verseifung desselben im wasserhaltigen Zustande ganz richtig ermittelt werden kann, durch diese Untersuchung von neuem bestätigt. Ist indessen aus äußeren Gründen Behandlung in Pulverform erwünscht, so kann man das Material mit nur ganz geringem Fettverluste innerhalb einiger Zehntelprozente in Pulverform erhalten, wenn das frische Material in kleiner Menge, die 200 g nicht überschreitet, durch Zusatz von gleichem Volumen

Alkohol (95 %) schnell auf dem Wasserbade getrocknet wird. Vernachlässigt man hierbei den Alkoholzusatz, so beträgt der Fettverlust stets über 1 %. Trocknet man über 300 g Material auf einmal, so muß man auch bei Alkoholzusatz darauf gefaßt sein, daß das Fett dabei um einige Prozente fortoxydiert wird.

Was die Verteilung des Fettes in den einzelnen Proben betrifft, so ist dieselbe in den Pulvern, wenn sie, wie eingangs beschrieben, so behandelt werden, daß sie vollends durch ein Sieb von 0,25 qmm gingen, bei weitem gleichmäßiger, als diejenige in dem einfach gut durchgemischten Fleischbrei. Dieses Verhalten geht aus folgenden beiden Tabellen klar hervor.

Abweichungen der einzelnen Fettwerte bei der direkten Verseifung des Fleischbreies.

Nr. der Versuchs-reihen	Meneg des Fleischbreies g	Fett in % des Fleischbreies			Maximal-differenz	Maximal-differenz in % des Mittel-wertes
		Maximal-wert	Minimal-wert	Mittel-wert		
I	100	2,368	2,352	2,361	0,016	0,68
II	200	3,742	3,701	3,724	0,041	1,10
III	300	2,261	2,186	2,223	0,075	3,37
IV	400	2,040	2,019	2,032	0,021	1,03
V	500	2,848	2,795	2,813	0,053	1,88
VI	600	2,274	2,253	2,264	0,021	0,93
VII	800	2,596	2,559	2,578	0,037	1,44
VIII	1000	2,354	2,245	2,289	0,109	4,76

Wie in den Originaltabellen ausführlich verzeichnet worden ist, wurden in jeder Versuchsreihe von dem gut durchgemischten Fleischbrei alle 5 bis 9 Proben von je 10 g genau abgewogen und nach Kumagawa-Suto der direkten Verseifung unterworfen. Obgleich die einzelnen Fettwerte anscheinend sehr gut übereinstimmen, so weichen doch die größten Differenzen zwischen dem maximalen und minimalen Werte im allgemeinen um so mehr von dem Mittelwerte ab, eine je größere Fleischmasse auf einmal verarbeitet wurde. Diese Abweichung beträgt, mit dem Mittelwerte verglichen, bei einer Fleischmenge von je 100 g 0,68 %, bei 200, 400 und 600 g gegen 1 %, bei 300 g ausnahmsweise 3,37 %, bei 500 g 1,88 %, bei 800 g 1,44 % und bei 1000 g 4,76. Hieraus geht offenbar hervor, daß die übliche Art der Zerkleinerung und Durchmischung des Fleisches für streng wissenschaftliche Zwecke noch nicht ausreicht, voll-

kommene Gleichmäßigkeit des Fettgehaltes in einzelnen Fleischproben von je 10 g zu erzielen. Praktisch kann man sich indessen damit begnügen und in den meisten Fällen für unseren Zweck als gleichmäßig genug betrachten, wenn man Sorge trägt, das Fleisch auf einmal nur in kleiner Menge zu verarbeiten, die im Maximum 200 g nicht überschreitet. Daß die Fettverteilung in Pulvern bei weitem gleichmäßiger ist, kann man aus folgender Tabelle leicht ersehen.

Abweichungen der einzelnen Fettwerte bei der Verseifung des getrockneten Fleischpulvers.

Nr. der Versuchsreihen	Menge des Fleischbreies g	Fett in % des Fleischbreies			Maximaldifferenz	Maximaldifferenz in % des Mittelwertes
		Maximalwert	Minimalwert	Mittelwert		
I B. 1	100	2,354	2,351	2,353	0,003	0,13
B. 2	100	2,305	2,297	2,302	0,008	0,35
III B. 1b	100	2,220	2,218	2,219	0,002	0,09
B. 2b	100	2,213	2,205	2,208	0,008	0,36
VIII B. 1b	100	2,282	2,276	2,279	0,006	0,26
II B. 1	200	3,722	3,715	3,719	0,007	0,19
B. 2	200	3,683	3,675	3,678	0,008	0,22
III B. 1a	300	2,201	2,195	2,198	0,006	0,28
B. 2a	300	2,155	2,146	2,151	0,009	0,42
IV B. 1	400	2,025	2,015	2,019	0,010	0,49
B. 2	400	2,015	2,011	2,013	0,004	0,19
V B. 1	500	2,783	2,774	2,779	0,009	0,32
B. 2	500	2,730	2,718	2,723	0,012	0,44
VI B. 1	600	2,222	2,213	2,216	0,009	0,46
B. 2	600	2,167	2,161	2,164	0,006	0,28
VII B. 1	800	2,550	2,542	2,545	0,008	0,31
B. 2	800	2,492	2,483	2,488	0,009	0,36
VIII B. 1a	1000	2,128	2,121	2,124	0,007	0,33

B. 1: getrocknet mit Alkoholzusatz.
B. 2: getrocknet ohne Alkoholzusatz.

Treibt man die Pulverisation des getrockneten Fleischrückstandes so weit, wie oben angegeben, so beträgt die Maximalabweichung der Fettwerte selbst bei der Verarbeitung von 1000 g nur einige Zehntelprozente. In keinem Falle wurde eine Maximaldifferenz über ein halbes Prozent verzeichnet. Wenn auch somit die alte Methode der Pulverisation in bezug auf die Fettverteilung über die direkte Verseifung des Fleischbreies bei weitem überlegen ist, so leidet jene wiederum daran, daß der Fettverlust beim Trocknen um so größer wird, eine je größere Fleischmasse man auf einmal verarbeitet. Zudem ist die Pulverisation der größeren Fleischtrockenmasse eine äußerst mühsame und un-

angenehme Operation. Hieraus geht nun für die Fettbestimmung des Fleisches der wichtige Grundsatz hervor, daß man sowohl bei der Breimethode wie bei der Pulvermethode das ursprünglich wasserhaltige Material nicht über 300 g auf einmal verarbeiten darf. Trocknet man, wie schon gesagt, den Fleischbrei in kleiner Menge innerhalb 200 g mit Alkoholzusatz möglichst schnell, so bleibt der Fettverlust infolge der Trocknung innerhalb eines halben Prozentes, dabei ist die Abweichung der einzelnen Fettwerte fast verschwindend klein. Verseift man Fleischbrei direkt, so fällt allerdings der Fettverlust infolge der Trocknung selbstverständlich ganz weg, dafür tritt infolge ungleichmäßiger Fettverteilung die Abweichung der einzelnen Fettwerte zutage, die selbst in kleinen Mengen (100 bis 200 g) im Maximum $^1/_2$ bis $1^0/_0$ des Mittelwertes beträgt. Bei der direkten Verseifung des Breies nähert sich demnach der Mittelwert um so mehr dem wahren Fettgehalt, je mehr die Zahl der Einzelbestimmungen wächst. Bei der Pulvermethode reichen dagegen ein paar Bestimmungen schon vollkommen aus. Daher muß man dafür genügend Sorge tragen, daß man unter allen Umständen durch Alkoholzusatz das Trocknen des Fleisches möglichst schnell vollendet und so die Oxydation des Fettes auf ein Minimum reduziert. Nach diesen Betrachtungen heben sich die Vorteile und Nachteile der beiden Methoden gegenseitig beinahe auf, und man kann die beiden Methoden in bezug auf die Genauigkeit als beinahe gleichwertig bezeichnen. Doch darf man die großen Vorzüge der direkten Verseifung des Breies nicht gering schätzen. Handelt es sich um die genaue Fettbestimmung der Organe für streng wissenschaftliche Zwecke, so kann man am besten so verfahren, daß man entweder das ganze Organ oder einen großen Bruchteil desselben mit entsprechend großer Menge Lauge in Lösung bringt und hiervon aliquote Teile in mehreren Proben weiter verseift. Hierdurch fallen alle oben genannten, allerdings kleinen, Fehler gänzlich weg. Um auch für jene Gewebe, deren Trocknung resp. Pulverisierung äußerst mühsam und infolge langer Trocknung ganz unmöglich ist, einen Fettverlust zu vermeiden, wie für Haut mit oder ohne Haare, Knochen, Gedärme, Gehirn usw., muß die direkte Verseifung in der Tat als die einzig rationelle Methode der Fettbestimmung bezeichnet werden. Auch für die Fettbestim-

mung kleiner Tiere, wie Frösche, Mäuse, sowie Körperflüssigkeiten physiologischen resp. pathologischen Ursprungs, muß die direkte Verseifung als zweckmäßiges Verfahren empfohlen werden, wie es Watanabe in der vorstehenden Abhandlung betont hat.

Fettverlust des getrockneten Fleischpulvers infolge langdauernder Hitzewirkung.

Bis jetzt war man allgemein gewöhnt, bei der Extraktion des Fettes mittels des Soxhletschen Apparates das zu extrahierende Pulver lange Zeit bei hoher Temperatur zu trocknen. Dies geht von der Voraussetzung aus, daß der Äther das Fett aus dem Organpulver um so vollständiger auszieht, je ärmer das Pulver an Wasser ist. Hierbei hat man auf die Möglichkeit keine Rücksicht genommen, daß das Organfett bei langdauernder Hitzewirkung immer mehr fortoxydiert wird. Da meines Wissens noch niemand versucht hat, festzustellen, in welchem Grade das getrocknete Organpulver infolge langdauernder Hitzewirkung einen Fettverlust erleidet, so habe ich im folgenden einige diesbezügliche Versuche angestellt. Diese Untersuchungen sind eigentlich direkt an die Versuchsreihe II angeschlossen. Nachdem von dem Fleischpulver II, B. 1 die einzelnen Fettwerte, wie schon angegeben, festgestellt worden waren, wurden noch 15 Extraproben von je 2,937 g Pulver entsprechend 10 g ursprünglichen Fleischbreies genau abgewogen. Eine Probe hiervon wurde in ein Becherglas von ca. 100 ccm Rauminhalt hineingebracht, mit einem Uhrglas bedeckt und nach 80stündigem Stehenlassen im Arbeitszimmer wie gewöhnlich verseift. Die neuen Fettwerte mit dem eigentlichen Mittelwerte verglichen, verhalten sich wie folgt:

Fleischpulver II. B. 1.	Petroläther-extrakt g	Unverseifbare Substanz g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
Ursprünglicher Mittelwert	0,3674	0,0119	0,3555	3,555	3,719	—
Neue Bestimmung nach 80 Stunden	0,3694	0,0134	0,3540	3,540	3,703	0,43

(Prozentische Fettverluste beziehen sich auf den ursprünglichen Mittelwert, in dem der Fettgehalt desselben gleich 100 gesetzt wurde.)

7 Proben wurden in Reagensgläsern von 18 cm Länge und 1,8 cm Durchmesser hineingetan und in der Nähe der freien Öffnung verengt. Hiernach wurde gereinigtes und getrocknetes CO_2-Gas mittels tief eingeführter Capillarröhre einige Minuten durchgeleitet und dann luftdicht verschmolzen. Je 4 Proben davon wurden im Trockenschrank bei 100° und je 3 Proben bei 50° 10 bis 80 Stunden lang erhitzt. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle verzeichnet.

Trocknung bei 100°. — Die Luft durch CO_2-Gas verdrängt.

Dauer der Erhitzung Stunden	Petroläther-extrakt g	Unverseifbare Substanz g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
10	0,3596	0,0088	0,3508	3,508	3,669	1,34
20	0,3614	0,0098	0,3516	3,516	3,678	1,10
40	0,3608	0,0088	0,3520	3,520	3,682	0,99
80	0,3597	0,0084	0,3513	3,513	3,675	1,18
Trocknung bei 50°. — Die Luft durch CO_2-Gas verdrängt.						
10	0,3640	0,0120	0,3520	3,520	3,682	0,99
30	0,3622	0,0130	0,3492	3,492	3,653	1,77
80	0,3624	0,0112	0,3512	3,512	3,674	1,21

Wie die beiden Tabellen uns zeigen, haben sämtliche Proben geringe Fettverluste von 0,99 bis 1,77% erlitten, obwohl die Luft durch CO_2-Gas verdrängt worden ist. Betrachtet man die beiden Tabellen etwas näher, so fällt uns zunächst der Befund auf, daß die Größe der Fettverluste in allen Proben beinahe gleichmäßig und weder von der Dauer der Erhitzung (10 bis 80 Stunden) noch von dem Grade der Temperatur (50° resp. 100°) abhängig ist. Dieser Befund kann wohl nur so gedeutet werden, daß die Verdrängung der Luft durch CO_2-Gas nicht ganz vollständig war, und eine geringe Menge Luftsauerstoff, der sich in den Pulvermaschen eingeschlossen vorfand, infolge der Erhitzung beinahe vollständig zur Oxydation des Organfettes verwertet worden ist. Wäre kein Sauerstoff vorhanden gewesen, so müßte natürlich kein Fettverlust eingetreten sein. Da aber bei allen Proben beinahe gleich viel Sauerstoff jedenfalls in geringer Menge vorhanden war und derselbe bei allen Proben vollends zur Oxydation verbraucht worden ist, so ist die Menge des oxydierten Fettes ganz unabhängig von der Dauer der Trocknung und von dem Grade der Temperatur beinahe gleich geblieben. Ganz andere Resul-

tate haben natürlich die folgenden 7 Proben ergeben, die bei freiem Luftzutritt ganz ebenso lang bei 100° resp. 50° erhitzt worden sind.

Trocknung des Fleischpulvers bei 100° bei freiem Luftzutritt.

Dauer der Erhitzung Stunden	Petroläther-extrakt g	Unverseifbare Substanz g	Fettsäure g	Fettsäure %	Neutralfett (Fettsäure × 1,046) %	Verlust %
10	0,3486	0,0094	0,3392	3,392	3,548	4,59
20	0,3200	0,0086	0,3114	3,114	3,257	12,42
40	0,3054	0,0062	0,2992	2,992	3,130	15,84
80	0,2930	0,0046	0,2884	2,884	3,017	18,88
Trocknung des Fleischpulvers bei 50° bei freiem Luftzutritt.						
10	0,3612	0,0124	0,3488	3,488	3,648	1,89
30	0,3586	0,0114	0,3472	3,472	3,632	2,34
80	0,3412	0,0096	0,3316	3,316	3,469	6,72

Wie die beiden Tabellen uns lehren, nimmt die Größe des Fettverlustes mit der Dauer der Erhitzung immer mehr zu, allerdings mit abnehmender Geschwindigkeit. Bei 100° beträgt der Fettverlust in 10 Stunden 4,6%, in 20 Stunden 12,4%, in 30 Stunden 15,8% und in 80 Stunden 18,9%. Bei 50° beträgt der Fettverlust in 10 Stunden 1,9%, in 30 Stunden 2,3% und in 80 Stunden 6,7%. Diese wichtigen Tatsachen sind bis jetzt bei den Stoffwechseluntersuchungen ganz vernachlässigt worden. Bei der direkten Verseifung des wasserhaltigen Materials nach Kumagawa-Suto fallen diese unerwarteten Fehlerquellen selbstverständlich ganz weg.

Da das Fett gegen Temperaturschwankungen so empfindlich ist, so kann mit Recht der Zweifel erhoben werden, ob es nicht möglich sei, daß im Verlaufe des Verseifungsverfahrens nach Kumagawa-Suto selber doch eine nicht zu vernachlässigende Fettoxydation eintreten könne. Um diese zu prüfen, bin ich gegenwärtig damit beschäftigt, in den einzelnen Phasen der Verseifung, Verdampfung des Äthers resp. Petroläthers, Trennung der unverseifbaren Substanzen, Trocknung der einzelnen Extrakte usw. die mögliche Fettoxydation genau zu verfolgen, indem ich so vorgehe, daß die Resultate der auf übliche Weise behandelten Einzelphasen mit denjenigen der streng im Vakuum behandelten Schritt für Schritt verglichen werden. Diese Untersuchungen sind schon zum großen Teil fertiggestellt und werden demnächst zur Publikation gelangen.

Über die Kataphorese des Oxyhämoglobins.

Von

L. Michaelis und H. Davidsohn.

(Aus dem biolog. Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban in Berlin.)

(Eingegangen am 22. März 1912.)

Die Bestimmung des isoelektrischen Punktes mit Überführungsversuchen macht im allgemeinen große Mühe. Eine Ausnahme macht das Oxyhämoglobin, dessen Wanderung man wegen seiner starken Färbung leicht beobachten kann.

Die früher[1]) beschriebene Bestimmung des isoelektrischen Punktes des Oxyhämoglobins ist ein so einfacher Versuch, daß er von jedem Kursisten gemacht werden kann. Wir wählten deshalb dieses Beispiel, um uns zu überzeugen, welchen Einfluß fremde Beimengungen auf die Wanderung des Hämoglobins ausüben, um dadurch die theoretische Bedeutung des elektrischen Umkehrpunktes noch besser zu fundieren, und um zu beweisen, daß unter den damals gewählten Bedingungen nichts außer der $[H^{\cdot}]$ die Wanderung des Oxyhämoglobins beeinflußt hat. Von vornherein wäre es nämlich möglich, daß auch die in der Versuchsanordnung ja unvermeidlichen anderen Ionen (Na-Ionen, Phosphat-Ionen usw.) oder die infolge ungenügender Reinheit des Hämoglobins vorhandenen kolloidalen Beimengungen (Albumin, Globulin, Stromasubstanz) einen Einfluß auf den Umkehrpunkt haben könnten. Zum näheren Verständnis präzisieren wir unsere Aufgabe durch folgendes: Jeder einzelne unserer Überführungsversuche ist ein qualitativer Überführungsversuch, er gibt uns nur über das Vorzeichen, nicht aber über

[1]) L. Michaelis und D. Takahashi, diese Zeitschr. 29, 439, 1910.

die Stärke der Ladung der Hämoglobinteilchen Aufschluß. Die Summe aller dieser qualitativen Versuche wird nur dadurch zu einer quantitativen, daß wir die Bedingungen feststellen, unter denen die Ladung überhaupt verschwindet. Wir benutzen unseren Apparat also gewissermaßen als Nullinstrument. Wir können daher im folgenden auch keinen zahlenmäßigen Aufschluß darüber geben, inwieweit die genannten Verunreinigungen sonst einen Einfluß auf die absolute Größe der Ladung der Hämoglobinteilchen haben, sondern wir können nur die Bedingungen für den Nullwert der Ladung feststellen. Es ist also zunächst auch nur unsere Aufgabe, zu untersuchen, ob der Nullpunkt der elektrischen Ladung des Oxyhämoglobins lediglich eine Funktion der $[H^{\cdot}]$ seiner Lösung ist.

I. Versuche über den Einfluß fremder Kolloide.

Schon die früheren Versuche zeigen, daß krystallisiertes Oxyhämoglobin sich ebenso verhält wie eine Lösung von gewaschenen roten Blutkörperchen in destilliertem Wasser. Nun ist aber auch das krystallisierte Oxyhämoglobin noch nicht als unbedingt chemisch rein zu betrachten. Wir wählten deshalb jetzt den umgekehrten Weg und verunreinigten die Hämoglobinlösung absichtlich mit Eiweiß und wandten im übrigen die schon damals beschriebene Versuchsanordnung an. Wir stellten die Versuche zum Teil so an, daß wir statt der Lösung gewaschener Blutkörperchen einfach lackfarben gemachtes (defibriniertes) Vollblut verwandten, zum Teil so, daß wir der lackfarbenen Lösung der reinen Blutkörperchen reines Serumalbumin bis zu einer Konzentration von etwa $^{1}/_{2}$ bis 1 $^{0}/_{00}$ zufügten. Alles übrige, besonders die Blutkörperchenmenge, war dieselbe wie in Tabelle III. Wir können uns die genauen Protokolle sparen, da sich eine Verschiebung des isoelektrischen Punktes durch das Albumin a b s o l u t n i c h t ergeben hat. Die Versuche fallen mit oder ohne Anwesenheit von Albumin in jeder Beziehung völlig gleich aus.

Ein derartiger Befund sichert die Bestimmungen auch der isoelektrischen Punkte anderer Kolloide, selbst wenn sie nicht in reiner Lösung untersucht wurden. Man kann wohl ganz allgemein den Satz ableiten, daß ein Kolloid den isoelektrischen Punkt eines zweiten, gleichzeitig in Lösung befindlichen Kol-

loids nicht verändert, wofern nicht eine nachweisliche chemische Affinität der beiden Kolloide zueinander besteht, wofür wir jüngst durch Gemische von Nucleinsäure mit Eiweißkörpern lehrreiche Beispiele erbracht haben.

II. Versuche über den Einfluß der Elektrolyte.

Alle unsere Versuche sind nur in Gegenwart fremder, den eigentlichen Versuch nicht direkt betreffender Elektrolyte möglich, da wir dieselben benötigen, um die gewünschten $H^{\cdot}$-Konzentrationen herzustellen. Für gewisse Fälle haben wir nun schon den Beweis erbracht, daß in weiten Grenzen diese fremden Elektrolyte ohne Einfluß auf den isoelektrischen Punkt der Kolloide sind. Wir wollen den gleichen Beweis für das Hämoglobin liefern und eine neue Tatsache hinzufügen, die von allgemeiner Bedeutung zu sein scheint.

In unseren früheren Versuchen waren diese fremden Elektrolyte Phosphatgemische in niederen Konzentrationen. Wir wiederholten jetzt die Versuche mit anderen Anionen, welche derartig beschaffen waren, daß man mit ihnen $H^{\cdot}$-Konzentrationen um 10^{-7} festlegen kann. Brauchbare, genügend lösliche und dabei nicht flüchtige Säuren mit genau bestimmter Dissoziationskonstante von ca. 10^{-7} stehen nicht sehr zahlreich zur Verfügung, und wir fanden deshalb in der Kakodylsäure eine angenehme Bereicherung der Methode. Sie wurde wie sonst im Gemisch mit ihrem Na-Salz angewendet. Ihre Dissoziationskonstante ist[1]) $= 6{,}4 \cdot 10^{-7}$. Ihre Lösung wurde stets frisch bereitet. Die gemäß der Konstante berechnete $[H^{\cdot}]$ eines Kakodylatgemisches stimmte mit der gemessenen leidlich, wenn auch nicht vollkommen überein. Die Hauptsache ist aber, daß die $H^{\cdot}$-Konzentration durch ein solches Gemisch in dem gewünschten Bereich gut definiert ist und leicht mit Gasketten gemessen werden kann. Die Versuche (Tabelle I) ergeben nun für das Hämoglobin einen isoelektrischen Punkt zwischen $2{,}8 \cdot 10^{-7}$ und $0{,}92 \cdot 10^{-7}$ in befriedigender Übereinstimmung mit dem durch Phosphatgemische früher bestimmten Wert von $1{,}8 \cdot 10^{-7}$.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**, 557, 1906. Siehe Lundén, Affinitätsmessungen an schwachen Säuren und Basen. Sammlung chem. u. chem.-techn. Vorträge, **14**, Heft 1/3, Stuttgart 1908.

Tabelle I.

Kataphorese des Hämoglobins in einem Kakodylsäuregemisch. „Hämoglobin" ist hier die lackfarbene Lösung gewaschener Hammelblutkörperchen in dest. Wasser. Der Hämoglobingehalt des unverdünnten Blutes ist = 100 % bezeichnet.

Versuch Nr.		[H˙] gemessen	Wanderung nach 30 Minuten
1	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 1,5 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 11,5	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$	kathodisch
	do.	$4{,}3 \cdot 10^{-7}$	kathodisch
2	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,9 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,1	—	—
	do.	—	kathodisch
3	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,75 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,25	$2{,}8 \cdot 10^{-7}$	kathodisch
4	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,6 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,0	$1{,}35 \cdot 10^{-7}$	schwach kathod.
	do.	$1{,}35 \cdot 10^{-7}$	fraglich kathodisch
5	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,5 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,5	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$	schwach kathod.
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$	schwach kathod.
6	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,43 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,57	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$	fraglich kathodisch
	do.	$1{,}3 \cdot 10^{-7}$	fraglich anodisch
7	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,4 n/10-kakodylsaures Natron . 3,2 dest. Wasser 12,4	$1{,}3 \cdot 10^{-7}$	fraglich kathodisch
8	20 %ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,3 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,7	—	fraglich anodisch
	do.	—	fraglich kathodisch

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch Nr.		[H˙] gemessen	Wanderung nach 30 Minuten
9	20%ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,25 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,75	$0,92 \cdot 10^{-7}$	schwach anodisch
	do.	$0,92 \cdot 10^{-7}$	schwach anodisch
10	20%ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,2 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,8	—	schwach anodisch
	do.	$0,88 \cdot 10^{-7}$	anodisch
11	20%ige Hämoglobinlös. . . 4,0 n/10-Kakodylsäure . . . . 0,15 n/10-kakodylsaures Natron . 3,0 dest. Wasser 12,85	—	anodisch
	do.	$4,7 \cdot 10^{-8}$	anodisch
	do.	$4,7 \cdot 10^{-8}$	anodisch

Ferner wurden die Versuche mit Phosphatgemisch bei sehr niederem Gesamtelektrolytgehalt verglichen mit anderen Versuchen mit Phosphatgemischen bei höherem Gesamtelektrolytgehalt, und zwar entweder durch Vermehrung der absoluten Phosphatkonzentration oder durch Hinzufügung von Neutralsalz zu dem geringer konzentrierten Phosphatgemisch. Eine sicher aus dem Bereich der Fehlergrenzen fallende Verschiebung des isoelektrischen Punktes des Hämoglobins hat sich hierbei nicht ergeben, wohl aber ein anderer Nebenbefund, dem wir späterhin noch häufiger begegnen werden.

Vergleichen wir nämlich Tabelle II und III miteinander. Beide Reihen sind mit Phosphatgemischen angestellt, aber Tabelle II mit relativ hoher Phosphatkonzentration (etwa $^n/_{10}$ in bezug auf Na˙), Tabelle III mit niederer (etwa $^n/_{50}$-Na˙). Tabelle III ergibt deutlich den isoelektrischen Punkt zwischen 2,4 und $1,2 \cdot 10^{-7}$, Tabelle II dagegen gibt als sichere Grenzen des isoelektrischen Gebietes die ziemlich große Spanne zwischen $14 \cdot 10^{-7}$ und $0,49 \cdot 10^{-7}$. Dies steht in keinem Gegensatz zu dem anderen Wert, läßt sogar wahrscheinlich erscheinen, daß der isoelektrische Punkt derselbe sein wird, aber die Bestimmung dieses Punktes wird bei höherem Salzgehalt unschärfer. Wenn

Tabelle II.

Kataphorese des Hämoglobins in Phosphatgemischen höherer Konzentration (etwa $^m/_{10}$ in bezug auf Na˙).

Versuchs-Nr.		[H˙] berechnet	[H˙] gemessen	Wanderung nach 30 Minuten	Gesamtkonzentration an Na˙
1	20%ige Hämoglobinlös. 8,0 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 6,0 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 0,3 dest. Wasser 5,7	$4{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,11 n
	do.	$4{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,11 n
2	20%ige Hämoglobinlös. 8,0 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 6,0 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 0,6 dest. Wasser 5,4	$2{,}0 \cdot 10^{-6}$	$1{,}5 \cdot 10^{-6}$	Spur kathodisch	0,12 n
	do.	$2{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	steht still	0,12 n
3	20%ige Hämoglobinlös. 2,5 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 4,8 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 0,6 dest. Wasser 12,1	$1{,}6 \cdot 10^{-6}$	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	kathodisch	0,10 n
	do.	$1{,}6 \cdot 10^{-6}$	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	kathodisch	0,10 n
4	20%ige Hämoglobinlös. 8,0 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 4,55 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 0,65 dest. Wasser 6,80	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	schwach kathodisch	0,0975 n
	do.	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	—	steht still	0,0975 n
5	20%ige Hämoglobinlös. 8,0 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 4,80 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 0,80 dest. Wasser 6,40	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	schwach kathodisch	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	fraglich	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	$0{,}92 \cdot 10^{-6}$	kathodisch	0.167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	fraglich	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	schwach kathodisch	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	schwach kathodisch	0,167 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	schwach kathodisch	0,167 n
6	20%ige Hämoglobinlös. 8,0 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 5,0 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 1,0 dest. Wasser 6,0	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	steht still	0,117 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	steht still	0,117 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	$0{,}82 \cdot 10^{-6}$	steht still	0,117 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	$0{,}82 \cdot 10^{-6}$	steht still	0,117 n
7	20%ige Hämoglobinlös. 2,5 $^m/_3$-prim. Phosphat . . . 4,0 $^m/_3$-sek. Phosphat . . . 1,0 dest. Wasser 12,5	$0{,}80 \cdot 10^{-6}$	$0{,}87 \cdot 10^{-6}$	steht still	0,10 n

Tabelle II (Fortsetzung).

Versuchs-Nr.		[H˙] berechnet	[H˙] gemessen	Wanderung nach 30 Minuten	Gesamtkonzentration an Na˙
8	20 %ige Hämoglobinlös. 2,5 $^{n}/_{3}$-prim. Phosphat . . . 0,9 $^{n}/_{3}$-sek. Phosphat . . . 2,7 dest. Wasser 13,9	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$6{,}3 \cdot 10^{-8}$	steht still	0,105 n
	do.	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$6{,}3 \cdot 10^{-8}$	steht still	0,105 n
9	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^{n}/_{3}$-prim. Phosphat . . . 1,0 $^{n}/_{3}$-sek. Phosphat . . . 3,0 dest. Wasser 12,0	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$4{,}9 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,117 n
	do.	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$4{,}9 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,117 n
10	20 %ige Hämoglobinlös. 2,5 $^{n}/_{3}$-prim. Phosphat . . . 0,5 $^{o}/_{3}$-sek. Phosphat . . . 2,5 dest. Wasser 14,5	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$	$3{,}2 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,0917 n
	do.	$4{,}0 \cdot 10^{-8}$	$3{,}2 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,0917 n
11	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^{n}/_{3}$-prim. Phosphat . . . 0,07 $^{n}/_{3}$-sek. Phosphat . . . 3,5 dest. Wasser 12,43	$4{,}0 \cdot 10^{-9}$	—	anodisch	0,129 n
	do.	$4{,}0 \cdot 10^{-9}$	—	anodisch	0,129 n

also auch die Lage des Nullpunktes der elektrischen Ladung des Hämoglobins unabhängig von der Gegenwart der Salze ist, so ist doch die Wanderungsgeschwindigkeit in der Nachbarschaft des isoelektrischen Punktes vom Salzgehalt abhängig, und zwar nimmt sie ab mit steigendem Salzgehalt. Man vergleiche z. B. die Wanderung bei etwa $1 \cdot 10^{-6}$ in Tabelle II und III. Während bei niederem Salzgehalt, in Tabelle III, die Wanderung stets kräftig kathodisch ist, macht die Bestimmung der Wanderungsrichtung bei gleicher [H˙] und höherem Salzgehalt in Tabelle II trotz zahlreicher Wiederholung fast unüberwindliche Schwierigkeiten; das Ergebnis ist bald Stillstand, bald schwache, undeutliche kathodische Wanderung. Der elektrische Umkehrpunkt ist also in salzarmer Lösung viel schärfer erkennbar. Diese Tatsache steht in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen bezüglich des Fällungsoptimums, z. B. von denaturiertem Serumalbumin. Dasselbe war bei salzarmer Lösung sehr scharf bestimmbar, in salzreicheren unscharf.

Es erschien uns nicht tunlich, mit Hilfe der mühsamen Überführungsmethode noch tiefer in diese Frage einzudringen,

Tabelle III.

Kataphorese des Hämoglobins in Phosphatgemischen niederer Konzentration.

Versuchs-Nr.		[H˙] berechnet	[H˙] nach dem Stromdurchgang gemessen	Wanderung nach 30 Minuten	Gesamtkonzentration an Na˙
1	20 %ige Hämoglobinlös. 8,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 1,2 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,12 dest. Wasser 10,68	$2{,}0 \cdot 10^{-6}$	$0{,}7 \cdot 10^{-6}$	kathodisch	0,024 n
	do.	$2{,}0 \cdot 10^{-6}$	$0{,}7 \cdot 10^{-6}$	kathodisch	0,024 n
2	20 %ige Hämoglobinlös. 8,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,96 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,16 dest. Wasser 10,88	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,0213 n
	do.	$1{,}2 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,0213 n
3	20 %ige Hämoglobinlös. 8,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 1,0 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,2 dest. Wasser 10,8	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,0233 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-6}$	—	kathodisch	0,0233 n
4	20 %ige Hämoglobinlös. 8,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,9 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,3 dest. Wasser 10,8	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	—	kathodisch	0,025 n
	do.	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	—	kathodisch	0,025 n
5	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,9 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,3 dest. Wasser 14,8	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}2 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,025 n
	do.	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}2 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,025 n
	do.	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}5 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,025 n
	do.	$6{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}6 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,025 n
6	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,8 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,4 dest. Wasser 14,8	$4{,}0 \cdot 10^{-7}$	$3{,}3 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,0255 n
	do.	$4{,}0 \cdot 10^{-7}$	$2{,}4 \cdot 10^{-7}$	kathodisch	0,0255 n
7	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,5 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,5 dest. Wasser 15,0	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$	anodisch	0,025 n
	do.	$2{,}0 \cdot 10^{-7}$	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$	anodisch	0,025 n
8	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,3 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,6 dest. Wasser 15,1	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$	$8{,}0 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,025 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$	$8{,}0 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,025 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$	$8{,}0 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,025 n
	do.	$1{,}0 \cdot 10^{-7}$	$8{,}0 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,025 n
9	20 %ige Hämoglobinlös. 4,0 $^n/_3$-prim. Phosphat . . . 0,2 $^n/_3$-sek. Phosphat . . . 0,6 dest. Wasser 15,2	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$5{,}9 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,0233 n
	do.	$6{,}7 \cdot 10^{-8}$	$5{,}9 \cdot 10^{-8}$	anodisch	0,0233 n

welche wieder einmal den rätselhaften Einfluß der Salze auf den Zustand der Kolloidlösung beleuchtet, sondern es lag uns nur an der prinzipiellen Feststellung der Tatsache. Nunmehr werden wir mit Hilfe der Methode des Fällungsoptimums die Frage an anderen Kolloiden einfacher und vielseitiger bearbeiten können.

Zusammenfassung.

Der isoelektrische Punkt des Hämoglobins erweist sich bei allen möglichen Kombinationen der Versuchsanordnung, unabhängig von der Reinheit der Hämoglobinlösung oder ihrer Vermischung mit anderen Kolloiden oder Salzen, identisch mit dem früher festgestellten. Ein höherer Salzgehalt hat aber insofern einen bemerkbaren Einfluß, als er die Zone der unbestimmten Wanderung, die „isoelektrische Zone", verbreitert.

Die Ausscheidungszeit von Stickstoff, Kohlenstoff, Schwefel und Phosphor nach Aufnahme von Eiweißstoffen und ihren Spaltungsprodukten.

II.

Die Ausscheidungszeit beim Hunde.

Von

Charles G. L. Wolf

unter Mitwirkung von **Emil Österberg.**

(Aus der Chemischen Abteilung des Medical College der Cornell-Universität, New York City.)

(Eingegangen am 25. März 1912.)

Mit 7 Figuren im Text.

In zwei kürzlich in dieser Zeitschrift[1]) veröffentlichten Abhandlungen habe ich eine Reihe von an Menschen ausgeführten Versuchen über die zum Abbau und zur Ausscheidung von Eiweißstoffen und gewissen Spaltungsprodukten derselben erforderlichen Zeit beschrieben.

Im Verlauf der Untersuchung stieß ich auf einige frappante Unterschiede im Verhalten von rohem, gekochten und vorverdauten Eiweiß. Um sichere Anhaltspunkte darüber zu gewinnen, erwies sich eine Wiederholung der Versuche an einem Tier notwendig, das an die Aufnahme von ungekochtem Futter gewöhnt ist.

Es ist schon oft behauptet worden, daß die Abbaufähigkeit des Hundes in bezug auf rohes Eiweiß wesentlich von derjenigen des Menschen abweicht, doch verfügen wir, soweit mir wenigstens bekannt ist, über keine Versuche, die sich speziell mit dieser Frage beschäftigen. Ferner hat man erklärt,

---

[1]) Wolf, diese Zeitschr. 40, 194 u. f. und 234 u. f. 1912.

daß die Eiweißausscheidung bei diesem Tier mit viel größerer Geschwindigkeit vor sich geht als beim Menschen.

Abgesehen von den in meiner vorhergehenden Arbeit mitgeteilten Versuchen, die aber noch nicht das letzte Wort darüber gebracht haben, scheint nichts über dieses interessante Problem bekannt zu sein. Auch fehlt jeder Anhalt über die Art und Weise, in welcher der Hund die Endspaltungsprodukte ausscheidet. Dies schien uns ein sehr aussichtsreiches und interessantes Forschungsgebiet, das in Angriff genommen zu werden verdiente.

Aus den Versuchen am Menschen hat sich ergeben, daß die hohe N-Ausscheidung nach Eiweißzufuhr von einer Abnahme in der Ammoniakabgabe begleitet wird, so daß in den ersten Stunden des Abbauprozesses große Mengen fixer Alkalien ausgeschieden werden müssen, um die Neutralität des Harns zu wahren. Bei der Rolle, welche Fleischfütterung bei Acidosis spielt, schien es sehr wichtig zu ermitteln, ob diese Flut fixer Alkalien nach Eiweißkost bei Tieren, die nicht wie der Mensch eine Hungeracidosis aufweisen, eine allgemeine Erscheinung ist.

Die Hauptversuche erstrecken sich auf die Beobachtung der Ausscheidungszeit von Stickstoff, Kohlenstoff und Schwefel nach Genuß von rohem und gekochten Fleisch. Da die Verfasser in der zwischen den beiden Versuchsreihen liegenden Zeit eine Methode[1]) ausgearbeitet hatten, die eine gleichzeitige Phosphor- und Schwefelbestimmung ermöglicht, waren wir in der Lage, auch diesen wichtigen anorganischen sauren Harnbestandteil zu bestimmen. Auf diese Weise konnten wir das vorhandene Material über die Ausfuhr fixer Alkalien während der ersten Verdauungsstunden ergänzen und erweitern.

Ich habe auch die interessanten Versuche über die Ausscheidung der zwei typischen Aminosäuren, Alanin und Cystin wiederholt, über die ich in meiner vorigen Arbeit berichtet habe.

Ganz vermieden ist in dieser Versuchsreihe die in der vorigen erörterte Schwierigkeit in bezug auf die vollständige Entleerung der Blase, da die Tiere katheterisiert und ihre

[1]) Diese Zeitschr. 29, 429, 1910.

Blasen nachher mit sterilem Wasser ausgewaschen wurden. Die Ausscheidungskurven verlaufen jedoch nicht viel gleichmäßiger als die beim Menschen erhaltenen. Dieser Umstand berechtigt uns zu dem Schluß, daß die Knicke in den Kurven in meinen früheren Versuchen wirklich auf Unregelmäßigkeiten in der stündlichen Ausscheidung beruhen und nicht künstlich durch unvollständige Blasenentleerung hervorgerufen sind.

Es kamen dieselben analytischen Methoden zur Anwendung, wie in meiner früheren Arbeit. Die Hunde wurden mit Argyrol, Urotropin und Kalomel vorbehandelt, wie in meiner Untersuchung über den Eiweißstoffwechsel des Hundes[1]) näher ausgeführt ist. Weder beim Auswaschen der Blase noch beim Aufbewahren des Harns zur Analyse wurde ein Antiseptikum benutzt. Da die stündliche Katheterisierung eines Tieres viele Stunden hintereinander mit einer uns wohl bewußten großen Infektionsgefahr der Blase verknüpft war, sterilisierten wir unsere Instrumente, Hände und die Genitalien der Tiere mit der peinlichsten Sorgfalt. Die Blase wurde mit destilliertem, sterilisiertem Wasser ausgespült.

Die täglich verzehrte Standardkost des Tieres war folgende:

Fein zerbröckelte Biskuits	120 g
Speck	40 g
Natriumchlorid	2 g
Wasser	420 g

Die Analyse des Futters ergab folgende Zahlen:

Stickstoff	2,22 g
Schwefel	0,188 g
Phosphor	0,230 g

Der gesamte calorische Wert des Futters betrug 840 cal. Da das Tier 11160 g wog, erhielt es 75 cal. per Kilogramm.

Der aus der Oberfläche berechnete calorische Bedarf dieses Tieres wurde auf 580 cal. festgestellt.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, betrug das Körpergewicht des Tieres bei Beginn des Versuches 11 160 g, am Schluß 11 260 g.

In einer Vorperiode wurde das Tier 17 Tage lang auf eine Standarddiät gesetzt, während welcher Zeit die tägliche N-Ausscheidung hin und wieder geprüft wurde, um in der Lage sein zu können, das Stickstoffgleichgewicht des Hundes so weit wie möglich aufrecht zu erhalten. Nach Ablauf dieser Zeit beobachteten wir das Tier am Normaltage und stellten die dabei gewonnenen Angaben zusammen.

[1]) Wolf, diese Zeitschr. 35, 336, 1911.

Die in dieser Arbeit beschriebenen Versuche unterscheiden sich von denjenigen der vorangehenden darin, daß an den Versuchstagen die gesamte Kost der Standarddiät mit dem Frühstück zusammen verabreicht wurde, was beim Hunde ganz einfach, beim Menschen unmöglich zu bewerkstelligen ist.

Versuchsausführung.

Aus der Tabelle mit den Daten über den täglichen Gesamtstoffwechsel ersieht man, daß die N-Ausscheidung einen geringen negativen Ausschlag aufweist. Für die drei Vorperiodentage, in denen 2,36, 2,19 und 2,39 g ausgeschieden wurden, ergibt sich ein Mittelwert von 2,31 g Harnstickstoff. Der gesamte Minusbetrag während dieser 3 Tage belief sich auf 1,79 g oder 0,59 g pro die.

Gesamtausscheidung.

Bei einer Zufuhr von 25,57 g Stickstoff in Form von gekochtem Fleisch wurden am ersten Tage 15,2 g N, am zweiten 3,3 g eliminiert. Am dritten Tage war das Tier nahezu auf dem Niveau der Vorperiode. Von den in diesen 3 Tagen 29,97 g zugeführten Stickstoffs fanden sich nur 20,9 g N im Harn wieder, so daß ein Plus von fast 10,0 g N dem Körper zugute kam. Bei dieser Berechnung haben wir den N-Verlust durch die Faeces vernachlässigt, der jedoch weniger als mit 0,5 g N täglich anzuschlagen wäre (Fig. 1).

Das wesentlich Interessanteste in diesem Versuche ist die Tatsache, daß die N-Ausscheidung durch den Harn innerhalb zweier Tage praktisch die Stufe des normalen Fütterungstages wieder erreicht hatte.

Mit rohem Fleisch beobachten wir eine fast identische Ausscheidungsmenge. Am ersten Tage beträgt der eliminierte Stickstoff 15,7 g gegenüber 15,2 g im vorigen Versuch. In den folgenden Tagen sinkt die N-Abgabe auf das normale Niveau in ähnlicher Weise wie beim gekochten Fleisch herab. Dieselbe Stickstoffretention: von 29,9 g verfütterten Stickstoffes werden 7,5 g im Körper zurückgehalten. Die Kotausscheidung ist in dieser Periode dieselbe wie vorher.

Was also die N-Ausscheidung betrifft, verhalten sich gekochtes und rohes Fleisch beim Hunde ziemlich gleich. In bezug auf den Schwefel ist die Einwirkung, abgesehen davon,

daß relativ mehr Schwefel als Stickstoff retiniert wird, analog. Das kommt in den verringerten Schwefel-Stickstoffverhältnissen an den Tagen zum Vorschein, an denen kein Fleisch verfüttert wurde. Vielleicht ist das auf den Umstand zurückzuführen, daß die Kost einen für die Bedürfnisse des Körpers nicht genügenden Schwefelgehalt besaß (Tab. I und II).

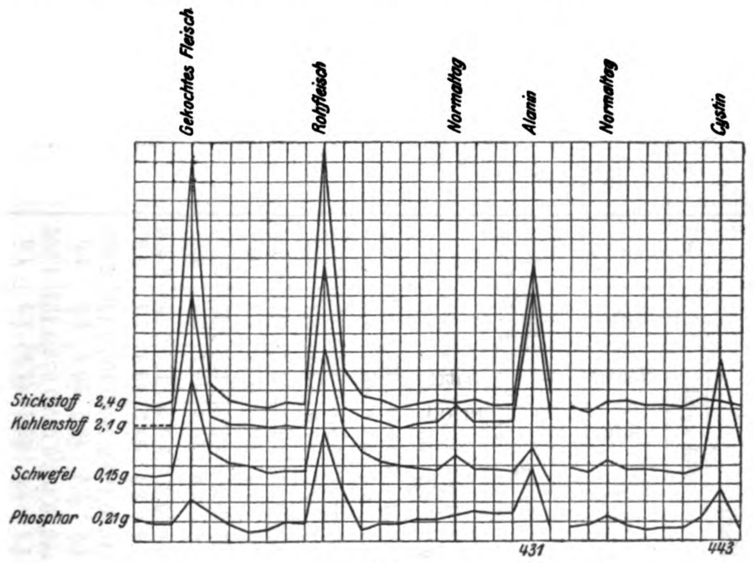


Fig. 1.

Die Gesamtresultate ergeben, daß eine positive Bilanz von 2,7 g Stickstoff mit einer negativen von 0,77 g Schwefel einhergeht.

Auch setzte das Tier in den Fütterungstagen mehr Phosphor an, und deshalb fällt das Phosphor-Stickstoffverhältnis auf einen niedrigeren Wert. Daß dies außerdem in einer relativen Phosphorarmut des Futters seinen Grund hat, erhellt aus dem Umstande, daß in diesem Versuch die Phosphorbilanz ein Minus von 0,70 g aufweist.

Auch in meinen Untersuchungen über Unterernährung und Hunger, die in dieser Zeitschrift seinerzeit erschienen, habe ich diese Phosphorretention beobachtet, nur prägte sie sich als Nachwirkung von Hunger viel schärfer aus als in den gegenwärtigen Versuchen. Eine durch das Fasten bedingte konstante und ziemlich hohe Phosphorausscheidung sank damals unmittelbar nach Eiweißaufnahme.

Tabelle I. Gesamtstoffwechsel I.

Tag Körpergewicht kg	Nahrung Stickstoff g	Nahrung Schwefel g	Nahrung Phosphor g	Harn Harnmenge in ccm Reaktion	Harn Stickstoff Gesamt- g	Harn Stickstoff Amid- g % N	Harn Stickstoff Ammoniak g % N	Harn Stickstoff Harnstoff g % N	Harn Schwefel Gesamt- g 100-1 S:N	Harn Schwefel Sulfat g % S	Harn Schwefel Neutral- g % S	Harn Phosphor g 100-1 P:N	Harn Kohlenstoff g 1-1 C:N	Kot Stickstoff g	Kot Schwefel g	Kot Phosphor g	Bilanz Stickstoff g	Bilanz Schwefel g	Bilanz Phosphor g
1. *11,16*	2,22 1)	0,188	0,230	345 sauer	2,364	2,046 *86,6*	0,234 *9,9*	1,812 *76,7*	0,150 *6,3*	0,079 *53,2*	0,071 *46,8*	0,207 *8,8*							
2. *11,26*	2,22	0,188	0,230	232 sauer	2,191	1,875 *86,8*	0,185 *8,5*	1,690 *78,3*	0,139 *6,3*	0,074 *53,4*	0,065 *46,6*	0,189 *8,6*							
3. *11,26*	2,22	0,188	0,230	340 sauer	2,390	2,088 *87,4*	0,191 *8,0*	1,897 *79,4*	0,149 *6,2*	0,070 *47,0*	0,079 *53,0*	0,193 *8,1*	2,006 *0,9*	1,505	0,287	0,290	— 1,790	— 0,161	— 0,189
4. *11,22*	25,57 2)	1,668	0,970	688 sauer	15,214	14,081 *92,6*	0,655 *4,3*	13,426 *88,3*	0,664 *4,4*	0,417 *62,8*	0,247 *37,2*	0,314 *2,1*	9,244 *0,6*						
5. *11,48*	1,67	0,141	0,170	320 sauer	3,360	2,905 *86,5*	0,378 *11,3*	2,527 *75,2*	0,269 *8,0*	0,136 *50,3*	0,133 *49,7*	0,252 *7,5*	2,577 *0,8*						
6. *11,34*	2,22	0,188	0,230	260 sauer	2,464	2,030 *82,4*	0,174 *7,1*	1,856 *75,3*	0,208 *8,5*	0,093 *44,7*	0,115 *55,3*	0,175 *7,1*	2,200 *0,9*						
7. *11,40*	2,22	0,188	0,230	280 sauer	2,261	1,813 *80,2*	0,197 *8,7*	1,616 *71,5*	0,199 *8,8*	0,099 *49,8*	0,100 *50,2*	0,148 *6,6*	2,220 *1,0*						
8. *11,40*	2,22	0,188	0,230	235 sauer	2,100	1,673 *79,7*	0,181 *8,6*	1,492 *71,1*	0,163 *7,8*	0,085 *52,1*	0,078 *47,9*	0,157 *7,5*	1,966 *1,0*						
9. *11,40*	2,22	0,188	0,230	400 sauer	2,384	1,808 *75,8*	0,221 *9,2*	1,587 *66,6*	0,174 *7,3*	0,088 *50,5*	0,086 *49,5*	0,196 *8,2*	2,125 *0,9*						
10. *11,30*	2,22	0,188	0,230	333 sauer	2,338	1,777 *76,0*	0,195 *8,3*	1,525 *67,7*	0,167 *7,1*	0,082 *48,9*	0,085 *51,1*	0,191 *8,2*	2,045 *0,9*	3,245	0,637	0,529	+ 4,974	+ 0,268	+ 0,328

11.	25,59[3])	1,638	1,219	626	15,777	14,272	0,594	13,678	0,810	0,400	0,410	0,678	10,646						
11,26						***90,44***	***3,8***	***86,6***	***5,1***	***49,4***	***50,6***	***4,3***	***0,7***						
12.	2,22	0,188	0,230	320	4,096	3,587	0,529	3,058	0,395	0,172	0,223	0,356	3,063						
11,66				sauer		*87,6*	*12,9*	*74,7*	*9,6*	*43,4*	*56,6*	*8,7*	*0,8*						
13.	2,22	0,188	0,230	390	2,720	2,222	0,239	1,983	0,273	0,109	0,164	0,162	2,580						
11,58				sauer		*81,7*	*8,8*	*72,9*	*10,0*	*39,9*	*60,1*	*6,0*	*1,0*						
14.	2,22	0,188	0,230	250	2,496	2,115	0,180	1,935	0,219	0,112	0,107	0,190	2,331						
11,54				sauer		*83,4*	*7,2*	*76,2*	*8,8*	*51,2*	*48,8*	*7,6*	*0,9*						
15.	2,22	0,188	0,230	300	2,135	1,792	0,217	1,575	0,200	0,080	0,120	0,192	2,060						
11,50				sauer		*83,9*	*10,1*	*73,8*	*9,4*	*40,0*	*60,0*	*9,0*	*1,0*						
16.	2,22	0,188	0,230	320	2,312	1,873	0,156	1,717	0,190	0,084	0,106	0,213	2,234						
11,56				sauer		*81,0*	*6,8*	*74,2*	*8,2*	*44,6*	*55,4*	*9,3*	*1,0*						
17.	2,22	0,188	0,230	268	2,392	1,759	0,166	1,593	0,175	0,085	0,090	0,211	2,267						
11,50				sauer		*73,5*	*6,9*	*66,6*	*7,3*	*48,6*	*51,4*	*8,8*	*1,0*	3,411	0,618	0,540	+ 3,571	− 0,114	+ 0,057
18.	2,22	0,188	0,230	449	2,300	1,687	0,166	1,521	0,252	0,090	0,162	0,234	2,660						
11,50						*73,4*	*7,2*	*66,2*	*11,0*	*35,7*	*64,3*	*10,1*	*1,1*						
19.	2,22	0,188	0,230	320	2,450	2,053	0,302	1,751	0,181	0,090	0,091	0,252	2,271						
11,40				sauer		*83,8*	*12,3*	*71,5*	*7,4*	*49,8*	*50,2*	*10,4*	*0,9*						
20.	2,22	0,188	0,230	350	2,168	1,749	0,156	1,593	0,179	0,079	0,100	0,241	—						
11,34				sauer		*80,6*	*7,2*	*73,4*	*8,3*	*44,1*	*55,9*	*11,1*	—						
21.	2,22	0,188	0,230	310	2,227	1,811	0,194	1,617	0,167	0,079	0,088	0,244	2,261						
11,40				sauer		*81,3*	*8,7*	*72,6*	*7,5*	*48,3*	*51,7*	*10,9*	*1,0*						
22.	10,515[4])	0,192	0,267	461	9,314	6,569	0,494	6,075	0,293	0,101	0,192	0,485	9,819						
11,52						*70,6*	*5,3*	*65,3*	*3,1*	*34,6*	*65,4*	*5,3*	*1,1*						
23.	0,615	0,052	0,064	160	2,815	2,400	0,119	2,281	0,113	0,051	0,062	0,173	2,380						
11,26				sauer		*85,3*	*4,3*	*81,0*	*4,0*	*44,8*	*55,2*	*6,1*	*0,9*	2,782	0,580	0,522	− 4,046	− 0,769	− 0,900
	103,920	7,075	6,830		90,268				5,730			5,653		10,943	2,122	1,881	+ 2,709	− 0,776	− 0,704

[1]) Standardkost. [2]) Gekochtes Fleisch. [3]) Rohes Fleisch. [4]) Alanin.

Tabelle II. Gesamtstoffwechsel II.

Tag / Körpergewicht	Nahrung			Harn										Kot			Bilanz		
				Harnmenge in ccm / Reaktion	Stickstoff				Schwefel			Phosphor	Kohlenstoff						
	Stickstoff	Schwefel	Phosphor		Gesamt-	Amid-	Ammoniak	Harnstoff	Gesamt-	Sulfat	Neutral			Stickstoff	Schwefel	Phosphor	Stickstoff	Schwefel	Phosphor
kg	g	g	g		g	g / % N	g / % N	g / % N	g / 100-1 S:N	g / % S	g / % S	g / 100-1 P:N	g / C:N	g	g	g	g	g	g
1	2,40	0,198	0,218	290	2,100	1,760	0,192	1,568	0,181	0,100	0,081	0,174	2,122						
11 320				sauer		*83,8*	*9,1*	*74,7*	*8,6*	*55,4*	*44,6*	*8,3*	*1,00*						
2	2,40	0,198	0,218	330	1,889	1,528	0,193	1,335	0,164	0,074	0,090	0,181	2,046						
11 340				sauer		*80,9*	*10,2*	*70,7*	*8,7*	*45,1*	*54,9*	*8,6*	*1,08*						
3	2,40[1])	0,198	0,218	293	2,379	1,815	0,143	1,672	0,228	0,095	0,133	0,226	2,428						
11 340				sauer		*76,3*	*6,0*	*70,3*	*9,6*	*41,7*	*58,3*	*9,5*	*1,02*						
4	2,40	0,198	0,218	390	2,390	2,000	0,194	1,806	0,178	0,093	0,085	0,181	2,231						
11 420				sauer		*83,7*	*8,1*	*75,6*	*7,5*	*52,3*	*47,7*	*7,6*	*9,3*						
5	2,40	0,198	0,218	400	2,200	1,730	0,190	1,540	0,178	0,093	0,085	0,160	2,394						
11 320				sauer		*78,6*	*8,6*	*70,0*	*8,1*	*52,3*	*47,7*	*7,2*	*1,09*						
6	2,40	0,198	0,218	330	2,220	1,800	0,196	1,604	0,168	0,085	0,083	0,173	2,400						
11 280				sauer		81,0	*8,8*	*72,2*	*7,6*	*50,6*	*49,4*	*7,8*	*1,08*						
7	2,40	0,198	0,218	238	2,100	1,760	0,164	1,596	0,151	0,076	0,075	0,166	2,427						
11 280				sauer		*83,8*	*7,8*	*76,0*	*7,2*	*50,3*	*49,7*	*7,9*	*1,16*						
8	2,40	0,198	0,218	450	2,507	2,075	0,213	1,862	0,184	0,092	0,092	0,222	2,619						
11 300				sauer		*82,8*	*8,5*	*74,3*	*7,3*	*50,0*	*50,0*	*8,8*	*1,05*	3,064	0,684	0,779	— 1,649	— 0,532	— 0,518
9	2,15[2])	0,948	0,195	318	2,394	1,756	0,414	1,342	0,657	0,396	0,261	0,376	2,503						
11 320				sauer		*73,4*	*17,3*	*56,1*	*27,4*	*60,3*	*39,7*	*15,7*	*1,05*						
10	2,40	0,198	0,218	230	2,701	1,990	0,290	1,700	0,298	0,157	0,141	0,173	2,350						
11 240				sauer		*90,4*	*13,2*	*77,2*	*13,5*	*52,7*	*47,3*	*7,9*	*1,07*	0,518	0,184	0,118	— 0,563	+ 0,007	— 0,254
	23,75	2,730	2,157		22,380				2,387			2,032		3,582	0,868	0,897	— 2,212	— 0,527	— 0,772

[1]) Normaltag. [2]) Cystin 3 g.

Fassen wir die Resultate als Ganzes zusammen, so können wir im Stoffwechsel des rohen und ungekochten Fleisches beim Hunde keine wesentlichen Unterscheidungsmerkmale finden.

Die Gesamtverhältnisse von Kohlenstoff zu Stickstoff sind nur interessant, insofern es sich um ihre Konstanz handelt. Während des Normaltages wurde ein Wert von 0,9 bis 1,0 erzielt. Nur an den Fleischfütterungstagen fiel die Zahl, wies also einen vermehrten Anteil des als Harnstoffstickstoff ausgeschiedenen Stickstoffes auf. Bei Alaninfütterung beobachteten wir, wie zu erwarten, ein höheres Verhältnis, nämlich 1,1, ein Beweis, daß diese Substanz zum Teil unverändert und kohlenstoffreiche, stickstofffreie Verbindungen zur Ausscheidung gelangten.

Normaltage.

Wie in meinen vorhergehenden Mitteilungen, habe ich Kontrollexperimente mit beiden Tieren gemacht, wobei nach Einnahme der Standardkost der Harn in stündlichen Intervallen gesammelt wurde.

Die Tabellen und Kurven stehen unten. Einzelheiten bedürfen keiner besonderen Erwähnung. Der interessanteste Befund dieser beiden Parallelversuche ist die auffallende Ähnlichkeit der Kurven, die an zwei verschiedenen Tieren erhalten wurden (Fig. 2 und 3; Tab. III und IV).

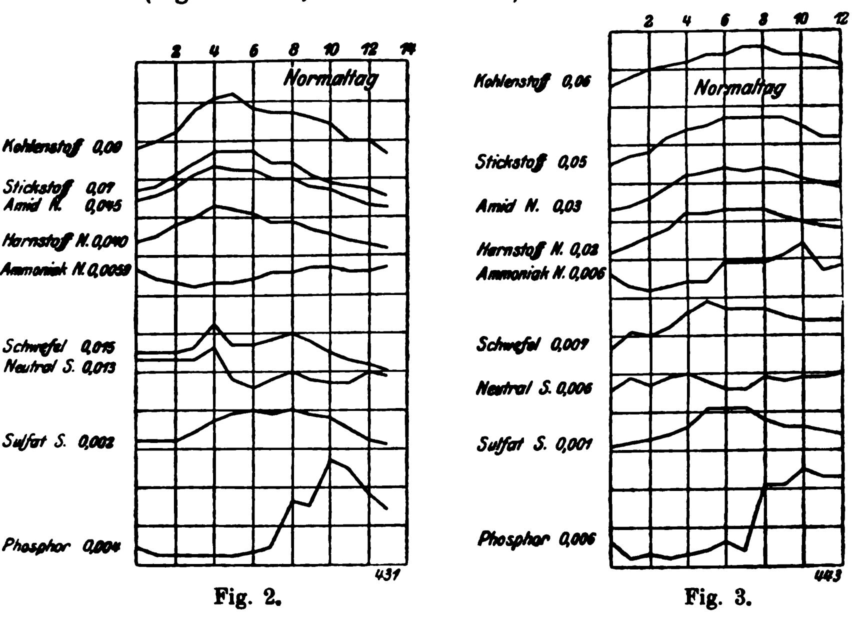


Fig. 2. Fig. 3.

Tabelle III. Normaltag I.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g % *N*	Ammoniak-Stickstoff g % *N*	Harnstoff-Stickstoff g % *N*	Gesamt-Schwefel *1–100* g *N:S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g % *S*	Neutral-Schwefel g % *S*	Phosphor *1–100* g *N:P*	Kohlenstoff g *C:N*	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
8 bis 9h v. *8* sauer	0,0720	0,0450 *62,50*	0,0059 *8,20*	0,0391 *54,30*	0,0153 *21,20*	0,0020 *13,07*	0,0133 *86,93*	0,0040 *5,55*	0,0900 *1,25*			
9 bis 10h v. *12* sauer	0,0833	0,0550 *66,05*	0,0042 *5,05*	0,0508 *61,00*	0,0147 *17,64*	0,0020 *13,60*	0,0127 *86,40*	0,0020 *2,41*	0,1030 *1,24*	*3,75*	*7,82*	*0,87*
10 bis 11h v. *10* alk.	0,1140	0,0783 *68,70*	0,0025 *2,20*	0,0758 *66,50*	0,0150 *13,16*	0,0020 *13,20*	0,0130 *86,80*	0,0020 *1,75*	0,1190 *1,04*	5,13 *8,88*	7,98 *15,80*	0,87 *1,74*
11 bis 12h v. *12* alk.	0,1380	0,1057 *76,60*	0,0017 *1,23*	0,1040 *75,37*	0,0163 *11,80*	0,0036 *22,20*	0,0127 *77,80*	0,0022 *1,60*	0,1840 *1,33*	6,24 *15,09*	8,67 *24,47*	0,96 *2,70*
12 bis 1h n. *32* alk.	0,1740	0,1290 *74,15*	0,0025 *1,44*	0,1265 *72,71*	0,0224 *12,87*	0,0066 *29,50*	0,0158 *70,50*	0,0018 *1,04*	0,2060 *1,18*	7,84 *22,93*	11,91 *36,38*	0,78 *3,48*
1 bis 2h n. *33* alk.	0,1650	0,1184 *71,77*	0,0025 *1,51*	0,1159 *70,26*	0,0168 *10,20*	0,0090 *54,00*	0,0078 *46,00*	0,0022 *1,33*	0,2240 *1,35*	7,43 *30,36*	8,94 *45,32*	0,96 *4,44*
2 bis 3h n. *44* sauer	0,1650	0,1163 *70,50*	0,0042 *2,55*	0,1121 *67,95*	0,0167 *10,10*	0,0104 *62,33*	0,0063 *37,67*	0,0029 *1,76*	0,1750 *1,06*	7,43 *37,79*	8,88 *54,20*	1,26 *5,70*
3 bis 4h n. *34* sauer	0,1350	0,0994 *73,62*	0,0059 *4,37*	0,0935 *69,25*	0,0178 *13,20*	0,0094 *52,80*	0,0084 *47,20*	0,0035 *2,59*	0,1730 *1,28*	6,08 *43,87*	9,47 *63,67*	1,52 *7,22*
4 bis 5h n. *60* sauer	0,1350	0,0973 *72,10*	0,0059 *4,37*	0,0914 *67,73*	0,0202 *15,00*	0,0102 *50,40*	0,0100 *49,60*	0,0163 *12,08*	0,1680 *1,25*	6,08 *49,95*	10,74 *74,41*	7,09 *14,31*
5 bis 6h n. *54* sauer	0,1100	0,0804 *73,10*	0,0069 *6,27*	0,0735 *66,83*	0,0176 *16,00*	0,0094 *53,27*	0,0082 *46,73*	0,0153 *14,00*	0,1580 *1,40*	4,95 *54,90*	9,36 *83,77*	6,65 *20,96*
6 bis 7h n. *50* sauer	0,0930	0,0656 *70,54*	0,0069 *7,42*	0,0587 *63,12*	0,0153 *16,48*	0,0079 *51,60*	0,0074 *48,40*	0,0269 *29,00*	0,1390 *1,50*	4,20 *59,10*	8,14 *91,91*	11,70 *32,66*
7 bis 8h n. *24* sauer	0,0770	0,0508 *66,00*	0,0059 *7,66*	0,0449 *58,34*	0,0125 *16,23*	0,0053 *42,10*	0,0072 *57,90*	0,0249 *32,34*	0,1000 *1,30*	3,47 *62,57*	6,65 *98,56*	*10,83* *43,49*
8 bis 9h n. *16* sauer	0,0720	0,0339 *47,10*	0,0059 *8,20*	0,0280 *38,90*	0,0123 *17,00*	0,0021 *17,34*	0,0102 *82,66*	0,0184 *25,56*	0,1000 *1,40*	3,24 *65,81*	6,54 *105,10*	8,00 *51,49*
9 bis 10h n. *14* sauer	0,0510	0,0254 *49,80*	0,0069 *13,53*	0,0185 *36,27*	0,0097 *19,00*	0,0012 *12,00*	0,0085 *88,00*	0,0136 *26,66*	0,0630 *1,23*	2,30 *68,11*	5,16 *110,26*	5,91 *57,40*
10h n. bis 9h v. *54* sauer	0,7880	0,6316 *80,15*	0,1040 *13,20*	0,5276 *66,95*	0,0453 *5,75*	0,0110 *24,30*	0,0343 *75,70*	0,1020 *13,00*	0,7480 *0,95*	35,50 *103,61*	24,10 *134,36*	44,35 *101,75*
9h v. bis 9h v. *449*	2,3003	1,6871 *73,35*	0,1659 *7,21*	1,5212 *66,14*	0,2526 *11,00*	0,0901 *35,67*	0,1625 *64,33*	0,2340 *10,18*	2,6600 *1,16*			

Tabelle IV. Normaltag II.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g %*N*	Ammoniak-Stickstoff g %*N*	Harnstoff-Stickstoff g %*N*	Gesamt-Schwefel g *N*:*S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g %*S*	Neutral-Schwefel g %*S*	Phosphor g *P*:*N*	Kohlenstoff *1–1* g *C*:*N*	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
9 bis 10^h v. *4* sauer	0,0491	0,0277 *56,4*	0,0060 *12,2*	0,0217 *44,2*	0,0074 *15,1*	0,0012 *16,2*	0,0062 *83,8*	0,0064 *13,0*	0,056 *1,1*			
10 bis 11^h v. *5* sauer	0,0663	0,0405 *61,1*	0,0026 *3,9*	0,0379 *57,2*	0,0110 *16,6*	0,0024 *21,8*	0,0086 *78,2*	0,0020 *3,0*	0,075 *1,1*	*2,76*	*5,55*	*0,92*
11 bis 12^h v. *5* sauer	0,0810	0,0575 *71,0*	0,0017 *2,1*	0,0558 *68,9*	0,0101 *12,5*	0,0030 *29,7*	0,0071 *70,3*	0,0026 *3,2*	0,095 *1,2*	3,38 *6,14*	5,10 *10,65*	1,19 *2,11*
12 bis 1^h n. *6* sauer	0,1150	0,0873 *75,9*	0,0026 *2,3*	0,0847 *73,6*	0,0123 *10,7*	0,0035 *28,5*	0,0088 *71,5*	0,0023 *2,0*	0,108 *0,9*	4,19 *10,93*	6,21 *16,86*	1,05 *3,16*
1 bis 2^h n. *7* sauer	0,1448	0,1236 *85,3*	0,0042 *2,9*	0,1194 *82,4*	0,0162 *11,2*	0,0064 *39,5*	0,0098 *60,5*	0,0033 *2,3*	0,117 *0,8*	6,03 *16,96*	8,18 *25,04*	1,51 *4,97*
2 bis 3^h n. *11* sauer	0,1534	0,1257 *82,0*	0,0042 *2,7*	0,1215 *79,3*	0,0190 *12,4*	0,0109 *57,4*	0,0081 *42,6*	0,0040 *2,6*	0,136 *0,9*	6,39 *23,35*	9,60 *34,64*	1,83 *6,50*
3 bis 4^h n. *13* sauer	0,1661	0,1406 *84,6*	0,0085 *5,1*	0,1321 *79,5*	0,0168 *10,1*	0,0110 *65,5*	0,0058 *34,5*	0,0058 *3,5*	0,139 *0,8*	6,92 *30,27*	8,48 *43,12*	2,66 *9,16*
4 bis 5^h n. *17* sauer	0,1661	0,1342 *80,8*	0,0085 *5,1*	0,1257 *75,7*	0,0173 *10,2*	0,0110 *63,6*	0,0063 *36,4*	0,0043 *2,6*	0,156 *0,9*	6,92 *37,19*	8,74 *51,86*	1,97 *11,13*
5 bis 6^h n. *18* sauer	0,1746	0,1363 *78,1*	0,0085 *4,9*	0,1278 *73,2*	0,0173 *10,0*	0,0081 *46,8*	0,0092 *53,2*	0,0206 *11,8*	0,163 *0,9*	7,27 *44,46*	8,74 *60,60*	9,46 *20,59*
6 bis 7^h n. *21* sauer	0,1661	0,1257 *75,7*	0,0110 *6,6*	0,1147 *69,1*	0,0148 *8,9*	0,0064 *43,2*	0,0084 *56,8*	0,0208 *12,5*	0,142 *0,9*	6,92 *51,38*	7,47 *68,07*	9,54 *30,13*
7 bis 8^h n. *22* sauer	0,1496	0,1130 *75,6*	0,0136 *9,1*	0,0994 *66,5*	0,0141 *9,4*	0,0066 *39,7*	0,0085 *60,3*	0,0250 *16,7*	0,142 *0,9*	6,23 *57,61*	7,12 *75,19*	11,74 *41,60*
8 bis 9^h n. *24* sauer	0,1236	0,0959 *77,6*	0,0068 *5,5*	0,0891 *72,1*	0,0140 *11,3*	0,0054 *38,6*	0,0086 *61,4*	0,0232 *18,8*	0,126 *1,0*	5,15 *62,76*	7,07 *82,26*	10,64 *52,24*
9 bis 10^h n. *24* sauer	0,1193	0,0873 *73,2*	0,0084 *7,0*	0,0789 *66,2*	0,0140 *11,7*	0,0036 *25,7*	0,0104 *74,3*	0,0228 *19,1*	0,113 *0,95*	4,97 *67,73*	7,07 *89,33*	10,46 *62,70*
10^h n. bis 10^h v. *120* sauer	0,7527	0,5470 *72,7*	0,0625 *8,3*	0,4845 *64,4*	0,0512 *6,8*	0,0176 *34,4*	0,0336 *65,6*	0,0895 *12,2*	0,916 *1,2*	31,37 *99,10*	25,86 *115,19*	41,05 *103,75*
10^h v. bis 10^h v. *293*	2,3781	1,8146 *76,3*	0,1431 *6,0*	1,6715 *70,3*	0,2281 *9,6*	0,0949 *41,7*	0,1332 *58,3*	0,2262 *9,5*	2,428 *1,02*			

Gekochtes Fleisch.

Dieser Versuch war der erste der Serie. 900 g mageres rohes Rindfleisch wurden in einem Dampftopf 1 Stunde lang gekocht, dann gepreßt und gewogen. Das Gewicht des Rückstandes betrug 625 g.

Nach einer 1 stündigen Vorperiode, die dazu diente, das Hungerniveau festzustellen, wurde diese Fleischmenge mit der Standarddiät und 420 ccm Wasser vermengt. Die gesamte Mahlzeit wurde in 40 Minuten verzehrt. Die folgenden Wassermengen nahm das Tier tagsüber ein: um 10 Uhr früh 15 ccm, um 11^{30} 80 ccm, um 1^{30} nachmittags 60 ccm, um 4^{30} 55 ccm, um 7^{30} 88 ccm. Mit Absicht nahmen wir von der Benutzung einer Magensonde Abstand, da unserer Meinung nach diese Prozedur die normale Peristaltik des Verdauungskanales störend beeinflussen könnte. Wir versuchten, das Wasser in kurzen Zwischenräumen zuzuführen, um die Endstoffwechselprodukte aus dem Organismus auszuspülen. Von 7^{30} abends bis 3 Uhr früh trank das Tier kein Wasser mehr (Fig. 4 und Tab. V.)

Die nach Verabreichung von 900 g Fleisch entstehende Kurve berechtigt ihrer Form nach keineswegs Feders Ausdruck der „explosiven Heftigkeit“. Wenn man die Stickstoffausscheidung des Hundes mit der Kurve nach Fütterung von 500 g Kalbkoteletts am Menschen vergleicht, so ist letztere beim Einsetzen bedeutend steiler als die vorliegende. Sogar nach 9 Stunden sind nur 21,6 °/₀ des gesamten eingenommenen Stickstoffes und nach 18 Stunden nicht mehr als 59,5 °/₀ im Harn ausgeschieden. Die Mittelperiode stellt ein Plateau ohne scharfen Gipfel dar.

Die Kohlenstoffkurve läuft fast genau mit der für Stickstoff parallel, dagegen ist die Schwefelkurve ganz anders, viel flacher gestaltet, wegen der größeren Retention dieses Elementes im Organismus, jedoch wird in der 11. Stunde ein Gipfel erreicht. Zur gleichen Zeit stehen auch Kohlenstoff und Stickstoff auf der Höhe der Abgabe. Die Phosphorkurve ist ebenfalls flach gestreckt, ihr Maximum eilt aber den anderen Elementen um 1 Stunde voran.

Von subtileren Einzelheiten der Ausscheidung fällt uns die auffallend niedrige Ausfuhr von Ammoniakstickstoff im ersten Teil des Versuches auf. Dieselbe Beobachtung wiederholt sich bei rohem Fleisch und in geringerem Umfange bei

Alanin. Die Form der Ammoniakkurve ist eigenartig und steht ohne Analogon in meinen Versuchen am Menschen da. Bis zur 5. oder 6. Stunde ist sie vollständig flach. Zieht man die anderen Kurven zum Vergleich heran, so läßt sich keine Be-

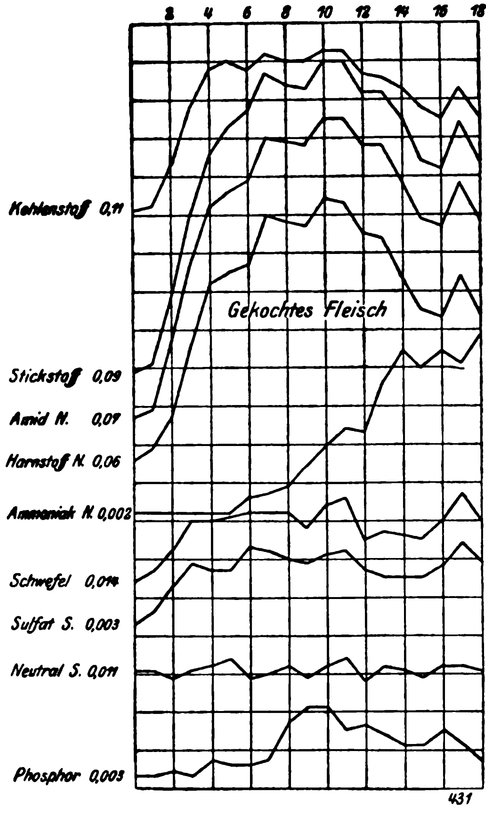


Fig. 4.

ziehung zwischen dem Plateau und dem Ansteigen des Ammoniaks mit irgendeinem der anderen Harnbestandteile auffinden. Bei rohem Fleisch verhält es sich zwar anders, denn hier sehen wir gleichzeitige, miteinander verknüpfte Steigerung der Ammoniak- wie Phosphorausscheidung. Die flache Kurve mit ihrem viel später erscheinenden Gipfel als beim Menschen ist nicht nur für die Fleischfütterungs-, sondern auch für die Normaltage charakteristisch. Man bemerkt ebenfalls eine entschiedene Zunahme in der Phosphorausfuhr in den späten Stunden der normalen Tage.

Tabelle V. Gekochtes Fleisch.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g *%N*	Ammoniak-Stickstoff g *%N*	Harnstoff-Stickstoff g *%N*	Gesamt-Schwefel g *N:S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g *% S*	Neutral-Schwefel g *% S*	Phosphor g *P:N*	Kohlenstoff g *C:N*	Prozentische Ausscheidung N	S	P
8 bis 9h v.	0,087	0,065	0,0017	0,0633	0,0137	0,0025	0,0112	0,0031	0,106			P. A.
11,0		*74,15*	*2,63*	*71,52*	*15,72*	*18,10*	*81,90*	3,56	*1,22*			
sauer												
9 bis 10h v.	0,105	0,089	0,0017	0,0873	0,0165	0,0059	0,0106	0,0032	0,124			
7,0		*84,30*	*1,62*	*82,68*	*15,72*	*35,76*	*64,24*	3,05	*1,18*	*0,41*	*1,000*	*0,33*
alk.												
10 bis 11h v.	0,287	0,267	0,0017	0,2653	0,0221	0,0132	0,0089	0,0043	0,231	1,12	1,325	0,44
18,0		*93,03*	*0,59*	*92,44*	*7,70*	*59,73*	*40,27*	1,50	*0,81*	*1,53*	*2,32*	*0,77*
alk.												
11 bis 12h v.	0,495	0,465	0,0017	0,4633	0,0300	0,0191	0,0109	0,0033	0,76	1,94	1,80	0,35
22,0		*94,00*	*0,34*	*93,66*	*6,06*	*63,66*	*36,34*	0,67				
alk.												
12 bis 1h n.	0,660	0,621	0,0017	0,6193	0,0295	0,0173	0,0122	0,0067	0,481	2,58	1,77	0,69
35		*94,10*	*0,26*	*93,84*	*4,47*	*58,64*	*41,36*	1,00	*0,73*	*6,05*	*5,89*	*1,81*
alk.												
1 bis 2h n.	0,725	0,648	0,0017	0,6463	0,0308	0,0171	0,0137	0,0056	0,496	2,83	1,85	0,58
34		*89,40*	*0,23*	*89,17*	*4,25*	*55,60*	*44,40*	0,77	*0,68*	*8,88*	*7,74*	*2,39*
alk.												
2 bis 3h n.	0,774	0,690	0,0063	0,6837	0,0317	0,0229	0,0088	0,0060	0,478	3,03	1,90	0,62
30		*89,12*	*0,81*	*88,31*	*4,10*	*72,22*	*27,78*	0,78	*0,62*	*11,91*	*9,64*	*3,01*
alk.												
3 bis 4h n.	0,872	0,803	0,0074	0,7956	0,0323	0,0221	0,0102	0,0073	0,520	3,41	1,94	0,75
40		*92,12*	*0,85*	*91,27*	*3,70*	*68,38*	*31,62*	0,84	*0,60*	*15,32*	*11,58*	*3,76*
alk.												
4 bis 5h n.	0,838	0,791	0,0090	0,7820	0,0322	0,0203	0,0119	0,0170	0,495	3,28	1,93	1,75
20		*94,40*	*1,07*	*93,33*	*3,83*	*63,10*	*36,90*	2,03	*0,59*	*18,60*	*13,51*	*5,51*
alk.												
5 bis 6h n.	0,831	0,780	0,0144	0,7656	0,0282	0,0188	0,0094	0,0206	0,497	3,25	1,69	2,13
30		*93,87*	*1,73*	*92,14*	*3,40*	*66,66*	*33,34*	2,48	*0,60*	*21,85*	*15,20*	*7,64*
alk.												
6 bis 7h n.	0,903	0,855	0,0195	0,8355	0,0338	0,0214	0,0124	0,0210	0,534	3,53	2,03	2,16
28		*94,70*	*2,16*	*92,54*	*3,74*	*63,18*	*36,82*	2,33	*0,59*	*25,38*	*17,23*	*9,80*
sauer												
7 bis 8h n.	0,900	0,850	0,0240	0,8260	0,0358	0,0219	0,0139	0,0152	0,530	3,52	2,15	1,57
32		*94,45*	*2,67*	*91,78*	*3,97*	*61,30*	*38,70*	1,69	*0,59*	*28,90*	*19,38*	*11,37*
sauer												
8h n. bis 9h v.	0,822	0,777	0,0230	0,7540	0,0247	0,0165	0,0082	0,0160	0,466	3,22	1,48	1,65
22		*94,50*	*2,80*	*91,70*	*3,01*	*66,66*	*33,34*	1,95	*0,57*	*32,12*	*20,86*	*13,02*
sauer												
9 bis 10h v.	0,820	0,780	0,0360	0,7440	0,0267	0,0150	0,0117	0,0136	0,464	3,21	1,60	1,41
34		*95,13*	*4,39*	*90,74*	*3,25*	*56,15*	*43,85*	1,66	*0,57*	*35,33*	*22,46*	*14,43*
sauer												
10 bis 11h v.	0,745	0,675	0,0440	0,6310	0,0258	0,0152	0,0106	0,0114	0,433	2,91	1,55	1,18
32		*90,60*	*5,90*	*84,70*	*3,46*	*58,80*	*41,20*	1,53	*0,58*	*38,24*	*24,01*	*15,61*
sauer												
11 bis 12h v.	0,642	0,593	0,0400	0,5530	0,0236	0,0145	0,0091	0,0115	0,378	2,51	1,42	1,19
30		*92,43*	*6,23*	*86,20*	*3,67*	*61,53*	*38,47*	1,79	*0,59*	*40,75*	*25,43*	*16,80*
sauer												

Tabelle V (Fortsetzung).

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g %N	Ammoniak-Stickstoff g %N	Harnstoff-Stickstoff g %N	Gesamt-Schwefel g N:S	Ges.-Sulfat-Schwefel g %S	Neutral-Schwefel g %S	Phosphor g P:N	Kohlenstoff g C:N	Prozentische Ausscheidung N	S	P
12 bis 1h n. *20* sauer	0,616	0,570 *92,54*	0,0440 *7,14*	0,5260 *85,40*	0,0300 *4,88*	0,0176 *58,64*	0,0124 *41,36*	0,0147 2,38	0,349 *0,57*	2,41 *43,16*	1,80 *27,23*	1,52 *18,32*
1 bis 2h n. *24* sauer	0,744	0,681 *91,53*	0,0410 *5,53*	0,6400 *86,00*	0,0364 *4,89*	0,0244 *66,97*	0,0120 *33,03*	0,0106 1,43	0,430 *0,58*	2,90 *46,06*	2,18 *29,41*	1,10 *19,42*
2 bis 3h n. *30* sauer	0,635	0,586 *92,26*	0,0480 *7,56*	0,5380 *84,70*	0,0300 *4,73*	0,0191 *63,74*	0,0109 *36,26*	0,0068 1,07	0,358 *0,57*	2,48 *48,54*	1,80 *31,21*	0,70 *20,12*
3 bis 9h n. *200* sauer	2,800	2,560 *91,92*	0,2900 *10,36*	2,2700 *81,00*	0,1440 *5,1*	0,0950 *65,77*	0,0490 *34,23*	0,1190 4,25	1,604 *0,57*	10,95 *59,49*	8,63 *39,84*	12,26 *32,38*
688	15,21	14,0 *92,5*	0,65 *4,30*	13,42 *88,2*	0,664 *4,37*	0,42 *62,8*	0,25 *37,2*	0,314 2,06	9,24 *6,10*	59,5	39,8	32,4

Während die einleitende Fastenstunde einen nicht so hohen Ammoniakwert wie beim Menschen liefert, sind die folgenden Zahlen ebenso niedrig wie in meinen früheren Versuchen. Zum Beispiel treten in den ersten Stunden für das Verhältnis von Ammoniak- zum Gesamtstickstoff so niedrige Werte wie 0,23 % auf, die gegen Ende der Versuchsperiode bis 10,3 % ansteigen.

Dieser Wert ist um weniges höher als derjenige, welchen ich nach Fütterung eines Hundes mit reichlichen Mengen Serumalbumin wahrgenommen habe. Die Werte für Amid- und Harnstoffstickstoff sind sehr hoch, wie man wohl voraussagen konnte. Der Amidstickstoff steht in der 3. Stunde am höchsten — 95,1 % des Gesamtstickstoffes wurden in Form von Harnstoff und Ammoniak ausgeschieden, doch schon mindestens 6 Stunden vorher war fast dieselbe Stufe erreicht worden.

Die Harnstoffwerte setzen fast unmittelbar nach Eiweißzufuhr hoch ein, denn schon in der 2. Stunde ist das Harnstoff-Stickstoffverhältnis 93,0 %.

Die Schwefelwerte bedürfen keines Kommentars, ausgenommen der Neutralschwefel. Letzterer steigt von einem

Fastenwert von 0,0112 g in einer einstündigen Periode auf 0,0139 g. Zu einer Zeit, wo die Gesamtschwefelausscheidung von 0,0137 g stündlich auf 0,0538 g, nämlich über 250 %, angestiegen ist, sehen wir deshalb beim Neutralschwefel nur eine Zunahme von 100 auf 123 %. Hier zeigt sich, vielleicht noch klarer als in meinen früheren Versuchen, die große Unabhängigkeit der Ausscheidung des neutralen von derjenigen des Gesamtschwefels.

Rohes Fleisch.

Zu diesem Versuch wurden mit der ursprünglichen Kost vermischt 664 g mageres rohes Rindfleisch verabreicht. Die gesamte Mahlzeit wurde in 25 Stunden, ohne Wasseraufnahme, verzehrt. Nach 2 1/2, 5 1/2, 8 1/2, 11 1/2 und 14 1/2 Stunden trank das Tier je 50 ccm Wasser.

Da das gekochte Fleisch mit großer Langsamkeit abgebaut worden war, wollte ich den Versuch mit rohem Fleisch auf eine längere Periode ausdehnen. So verfügen wir über Resultate für 25 aufeinanderfolgende Stunden.

Ein Vergleich der Kurven für gekochtes und rohes Fleisch ergibt fast keine bemerkenswerte Differenz beim Hunde. Die Kurvenform für Kohlen- und Stickstoff sind kaum auseinander zu halten. In dem Versuch mit rohem Fleisch erreicht das Ammoniak später seinen Höhepunkt als mit gekochtem (Fig. 5).

Der Phosphor steigt früh bis fast an den Gipfel hinan, und die Höhe der Ausscheidung hält beinahe 7 Stunden an, so daß die Kurve ein flaches Plateau bildet (Tab. VI).

Ein Vergleich der prozentualen Stickstoff-, Schwefel- und Phosphorausscheidung liefert sehr interessante Resultate.

In der 8. Stunde nach Verabreichung der Kost waren 25,3 % des Gesamtstickstoffes des gekochten Fleisches gegenüber 19,4 % des rohen ausgeschieden worden. Wegen des wesentlich schnelleren Abbaues des rohen Fleisches in den folgenden Stunden betrug die N-Ausscheidung in der 16. Stunde 43,1 % beim gekochten Fleisch, beim rohen 41,0 %, und in der 18. Stunde sind die beiden so gut wie identisch.

Die ausgeschiedene Schwefelmenge ist beim gekochten Fleisch immer relativ prozentisch niedriger als beim rohen. Es scheint also, als ob der Vorgang des Kochens den N-Anteil des

Eiweißmoleküles abbaufähiger macht, während beim schwefelhaltigen Teil das Entgegengesetzte eintritt.

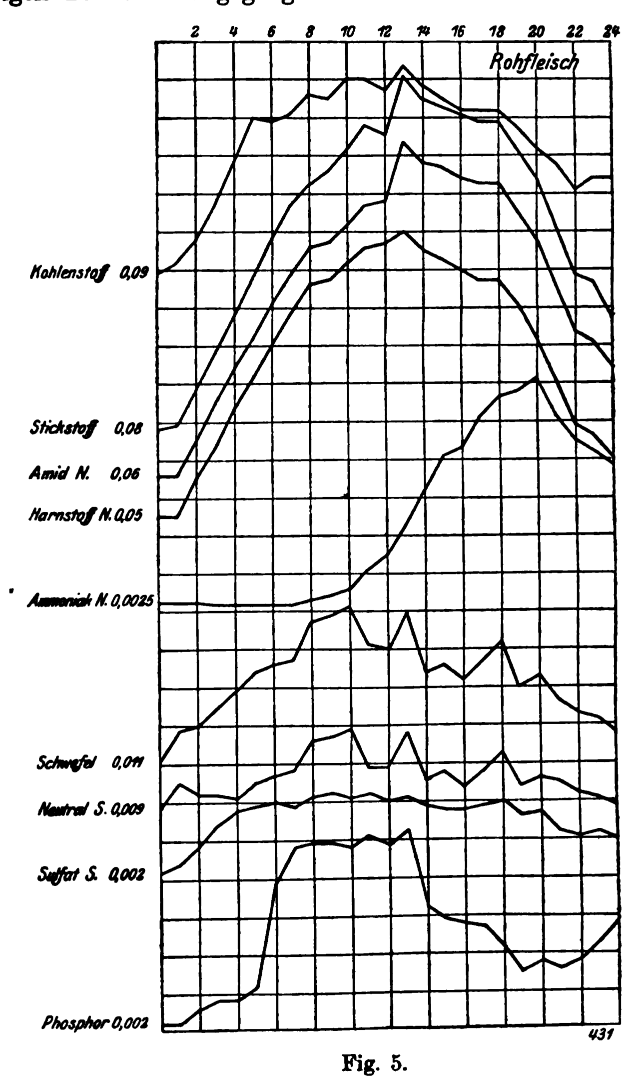


Fig. 5.

Beim Phosphor liegen die stündlichen prozentischen Ausscheidungswerte beim rohen und gekochten Fleisch viel weiter auseinander. Aus den gewonnenen Resultaten scheint hervorzugehen, daß der im rohen Fleisch enthaltene Phosphor viel schneller abgebaut und ausgeschieden wird als der des gekochten.

Tabelle VI. Rohes Fleisch.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g *%N*	Ammoniak-Stickstoff g *%N*	Harnstoff-Stickstoff g *%N*	Gesamt-Schwefel *1–100* g *N:S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g *%S*	Neutral-Schwefel g *%S*	Phosphor *1–100* g *P:N*	Kohlenstoff g *C:N*	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
8 bis 9h v. *8* sauer	0,082	0,0550 *67,20*	0,0025 *3,05*	0,0525 *64,15*	0,0107 *13,00*	0,0015 *13,85*	0,0092 *86,15*	0,0023 *2,80*	0,095 *1,16*			
9 bis 10h v. *6* sauer	0,089	0,0562 *63,20*	0,0025 *2,81*	0,0537 *60,39*	0,0186 *21,00*	0,0041 *22,10*	0,0145 *77,90*	0,0025 *2,81*	0,119 *1,34*	*0,35*	*1,13*	*0,20*
10 bis 11h v. *14* sauer	0,182	0,150 *82,44*	0,0025 *1,37*	0,1475 *81,07*	0,0201 *11,05*	0,0077 *38,10*	0,0124 *61,90*	0,0061 *3,35*	0,172 *0,95*	0,71 *1,06*	1,23 *2,36*	0,50 *0,70*
11 bis 12h v. *15* alk.	0,275	0,240 *87,28*	0,0017 *0,62*	0,2383 *86,66*	0,0250 *9,08*	0,0135 *54,13*	0,0115 *45,87*	0,0081 *2,95*	0,268 *0,98*	1,08 *2,14*	1,73 *3,89*	0,66 *1,36*
12 bis 1h n. *22* alk.	0,381	0,342 *89,76*	0,0017 *0,45*	0,3403 *89,31*	0,0292 *7,65*	0,0181 *62,16*	0,0111 *37,84*	0,0075 *1,97*	0,389 *1,00*	1,49 *3,63*	1,58 *5,67*	0,62 *1,98*
1 bis 2h n. *20* alk.	0,484	0,419 *86,60*	0,0017 *0,35*	0,4173 *86,25*	0,0343 *7,08*	0,0194 *56,70*	0,0149 *43,30*	0,0118 *2,44*	0,500 *1,05*	1,89 *5,52*	2,09 *7,76*	0,97 *2,95*
2 bis 3h n. *20* alk.	0,575	0,505 *87,80*	0,0017 *0,30*	0,5033 *87,50*	0,0362 *6,29*	0,0197 *54,43*	0,0165 *45,57*	0,0387 *6,73*	0,494 *0,86*	2,25 *7,77*	2,21 *9,97*	3,17 *6,12*
3 bis 4h n. *25* alk.	0,666	0,590 *90,66*	0,0017 *0,26*	0,5883 *90,40*	0,0370 *5,55*	0,0193 *52,10*	0,0177 *47,90*	0,0484 *7,27*	0,512 *0,77*	2,60 *10,37*	2,26 *12,23*	3,97 *10,09*
4 bis 5h n. *24* alk.	0,733	0,660 *90,05*	0,0025 *0,34*	0,6575 *89,71*	0,0465 *6,34*	0,0209 *44,85*	0,0256 *55,15*	0,0494 *6,74*	0,558 *0,76*	2,87 *13,24*	2,84 *15,07*	4,05 *14,14*
5 bis 6h n. *24* alk.	0,762	0,672 *88,20*	0,0042 *0,55*	0,6678 *87,65*	0,0486 *6,38*	0,0217 *44,64*	0,0269 *55,36*	0,0488 *6,40*	0,549 *0,72*	2,98 *16,22*	2,97 *18,04*	4,00 *18,14*
6 bis 7h n. *24* alk.	0,815	0,721 *88,30*	0,0059 *0,72*	0,7151 *87,58*	0,0507 *6,22*	0,0213 *41,90*	0,0294 *58,10*	0,0478 *5,87*	0,604 *0,74*	3,19 *19,41*	3,10 *21,14*	3,92 *22,06*
7 bis 8h n. *26* alk.	0,883	0,774 *87,65*	0,0105 1,19	0,7635 *86,46*	0,0409 *4,63*	0,0216 *53,00*	0,0193 *47,00*	0,0511 *5,79*	0,603 *0,68*	3,45 *22,86*	2,50 *23,64*	4,19 *26,25*
8 bis 9h n. *22* sauer	0,858	0,783 *91,25*	0,0147 *1,71*	0,7683 *89,54*	0,0395 *4,61*	0,0203 *51,46*	0,0192 *48,54*	0,0491 *5,72*	0,572 *0,66*	3,35 *26,21*	2,41 *26,05*	4,03 *30,28*
9 bis 10h n. *25* sauer	1,012	0,926 *91,50*	0,0225 *2,22*	0,9035 *89,28*	0,0496 *4,90*	0,0213 *42,90*	0,0283 *57,10*	0,0533 *5,27*	0,641 *0,63*	3,95 *30,16*	3,03 *29,08*	4,37 *34,65*
10 bis 11h n. *28* sauer	0,950	0,879 *92,50*	0,0315 *3,32*	0,8475 *89,18*	0,0344 *3,62*	0,0186 *54,00*	0,0158 *46,00*	0,0322 *3,40*	0,578 *0,61*	3,71 *33,87*	2,10 *31,18*	2,64 *37,29*

Tabelle VI (Fortsetzung).

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g %N	Ammoniak-Stickstoff g %N	Harnstoff-Stickstoff g %N	Gesamt-Schwefel *1–100* g N:S	Ges.-Sulfat-Schwefel g %S	Neutral-Schwefel g %S	Phosphor *1–100* g P:N	Kohlenstoff g C:N	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
11 bis 12h n. *22* sauer	0,925	0,870 *94,06*	0,0405 *4,38*	0,8295 *89,68*	0,0355 *3,84*	0,0178 *50,13*	0,0177 *49,87*	0,0289 *3,12*	0,554 *0,60*	3,62 *37,49*	2,17 *33,35*	2,37 *39,66*
12 bis 1h v. *20* sauer	0,911	0,843 *92,55*	0,0432 *4,74*	0,7998 *87,81*	0,0318 *3,49*	0,0180 *56,46*	0,0138 *43,54*	0,0279 *3,06*	0,523 *0,57*	3,56 *41,05*	1,94 *35,29*	2,30 *41,96*
1 bis 2h v. *24* sauer	0,893	0,825 *92,40*	0,0507 *5,68*	0,7743 *86,72*	0,0368 *4,12*	0,0193 *52,35*	0,0175 *47,65*	0,0268 *3,00*	0,520 *0,58*	3,49 *44,54*	2,25 *37,54*	2,20 *44,16*
2 bis 3h v. *28* sauer	0,893	0,828 *92,70*	0,0558 *6,25*	0,7722 *86,45*	0,0421 *4,71*	0,0195 *46,18*	0,0226 *53,82*	0,0223 *2,50*	0,518 *0,58*	3,49 *48,03*	2,57 *40,11*	1,83 *45,99*
3 bis 4h v. *38* sauer	0,822	0,762 *92,70*	0,0567 *6,90*	0,7053 *85,80*	0,0302 *3,68*	0,0163 *54,00*	0,0139 *46,00*	0,0152 *1,85*	0,474 *0,58*	3,21 *51,24*	1,84 *41,95*	1,25 *47,24*
4 bis 5h v. *75* sauer	0,738	0,678 *91,86*	0,0609 *8,25*	0,6171 *83,61*	0,0326 *4,42*	0,0167 *51,26*	0,0159 *48,74*	0,0175 *2,37*	0,420 *0,57*	2,88 *54,12*	1,99 *43,94*	1,43 *48,67*
5 bis 6h v. *46* sauer	0,606	0,563 *92,90*	0,0530 *8,75*	0,5100 *84,15*	0,0272 *4,48*	0,0124 *45,44*	0,0148 *54,56*	0,0162 *2,67*	0,384 *0,63*	2,37 *56,49*	1,66 *45,60*	1,33 *50,00*
6 bis 7h v. *21* sauer	0,491	0,437 *89,04*	0,0449 *9,14*	0,3921 *79,90*	0,0233 *4,76*	0,0114 *48,63*	0,0119 *51,37*	0,0183 *3,73*	0,213 *0,43*	1,92 *58,41*	1,42 *47,02*	1,50 *51,50*
7 bis 8h v. *36* sauer	0,459	0,406 *88,50*	0,0432 *9,41*	0,3628 *79,09*	0,0222 *4,84*	0,0116 *52,20*	0,0106 *47,80*	0,0229 *5,00*	0,244 *0,53*	1,80 *60,21*	1,35 *48,37*	*1,88* *53,38*
8 bis 9h v. *21* sauer	0,374	0,343 *91,60*	0,0392 *10,48*	0,3038 *81,12*	0,0182 *4,85*	0,0095 *52,26*	0,0087 *47,74*	0,0275 *7,35*	0,237 *0,63*	1,46 *61,67*	1,11 *49,48*	2,26 *55,64*
9 bis 9h v. *626*	15,777	14,2722 *90,44*	0,5934 *3,77*	13,6788 *86,67*	0,8105 *5,14*	0,4000 *49,36*	0,4105 *50,64*	0,6783 *4,30*	10,646 *0,68*			

Die folgende Tabelle veranschaulicht das oben Gesagte.

Stunde	Prozentuale Gesamtausscheidung Rohes Fleisch N	 S	 P	 Gekochtes Fleisch N	 S	 P
10.	19,0	21,1	21,3	25,3	17,2	10,4
16.	41,0	35,2	39,3	43,1	27,2	18,5
18.	48,0	40,1	43,0	48,5	31,2	20,6

Was die Stickstoffverteilung betrifft, so fehlt jeder markante Unterschied zwischen rohem und gekochtem Fleisch. Zwar sind die Amidstickstoffwerte beim rohen Fleisch etwas niedriger als beim gekochten, doch kann man von keiner auffallenden Differenz sprechen. Wie schon erwähnt, ist der Bruchteil des als Ammoniak ausgeschiedenen Stickstoffes sehr gering, denn in 1 Stunde wurden 0,26 % des Gesamtstickstoffes als Ammoniak eliminiert.

Alanin.

Dann führte ich zur Kontrolle eine Wiederholung des interessanten Alaninversuches aus, über den ich in meiner letzten Arbeit Näheres mitgeteilt habe.

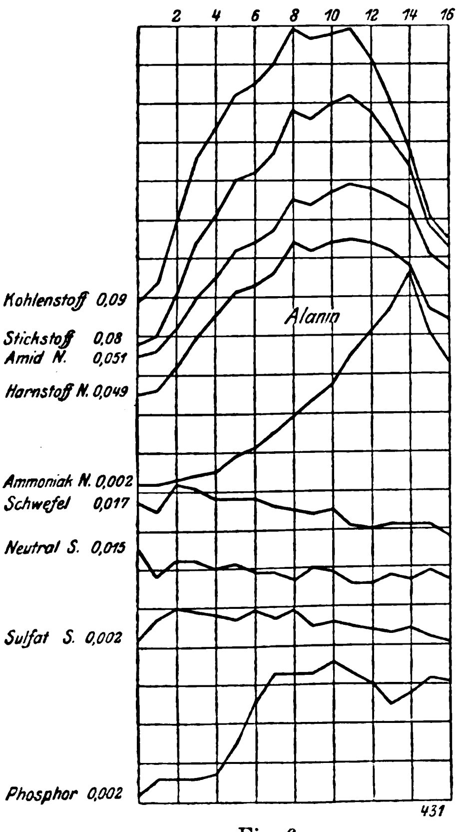


Fig. 6.

Zu diesem Zweck wurden 50 g inaktives, in 420 ccm Wasser aufgelöstes Alanin der Kostnorm beigemengt, und um das Gemisch wohlschmeckender zu gestalten, noch 10 ccm Fleischextrakt hinzugefügt. Aus den oben dargelegten Gründen sah ich von der Verwendung einer Magensonde ab. Das Futter mit dem Alanin wurden mit sichtlichem Appetit gefressen; an diesem Tage gaben wir außerdem alle 2 Stunden 50 ccm Wasser.

Ein Blick auf die Kurve lehrt, daß die N-Ausscheidung nicht mit derselben Geschwindigkeit wie beim Men-

Tabelle VII. Alanin.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g $^0/_0 N$	Ammoniak-Stickstoff g $^0/_0 N$	Harnstoff-Stickstoff g $^0/_0 N$	Gesamt-Schwefel *1–100* g $N:S$	Ges.-Sulfat-Schwefel g $^0/_0 S$	Neutral-Schwefel g $^0/_0 S$	Phosphor *1–100* g $P:N$	Kohlenstoff g $C:N$	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
8 bis 9h v. *12* sauer	0,075	0,0508 *67,73*	0,0017 *2,26*	0,0491 *65,47*	0,0170 *22,60*	0,0016 *9,40*	0,0154 *90,60*	0,0022 *2,93*	0,088 *1,18*			
9 bis 10h v. *10* alk.	0,098	0,0613 *62,56*	0,0017 *1,74*	0,0596 *60,82*	0,0150 *15,30*	0,0067 *45,00*	0,0083 *55,00*	0,0062 *6,33*	0,138 *1,40*	 *0,93*	 *7,81*	 *2,32*
10 bis 11h v. *12* alk.	0,210	0,1238 *59,00*	0,0025 *1,25*	0,1213 *57,75*	0,0216 *10,30*	0,0100 *46,00*	0,0116 *54,00*	0,0058 *2,76*	0,301 *1,43*	2,00 *2,93*	11,25 *19,06*	2,17 *4,49*
11 bis 12h v. *18* alk.	0,333	0,1987 *59,70*	0,0042 *1,26*	0,1945 *58,44*	0,0208 *6,25*	0,0087 *42,07*	0,0121 *57,93*	0,0062 *1,87*	0,462 *1,39*	3,17 *6,10*	10,83 *29,89*	2,32 *6,81*
12 bis 1h n. *20* alk.	0,413	0,2517 *60,93*	0,0052 *1,26*	0,2465 *59,67*	0,0180 *4,36*	0,0082 *45,66*	0,0098 *54,34*	0,0067 *1,62*	0,536 *1,30*	3,93 *10,03*	9,38 *39,27*	2,51 *9,32*
1 bis 2h n. *22* sauer	0,498	0,3152 *63,30*	0,0087 *1,72*	0,3065 *61,58*	0,0180 *3,62*	0,0073 *40,83*	0,0107 *59,17*	0,0147 *2,95*	0,621 *1,25*	4,74 *14,77*	9,38 *48,65*	5,50 *14,82*
2 bis 3h n. *24* sauer	0,524	0,3374 *64,39*	0,0113 *2,16*	0,3261 *62,23*	0,0180 *3,44*	0,0093 *51,85*	0,0087 *48,15*	0,0255 *4,87*	0,651 *1,24*	4,98 *19,75*	9,38 *58,03*	9,55 *24,37*
3 bis 4h n. *20* sauer	0,570	0,3700 *64,90*	0,0150 *2,63*	0,3550 *62,27*	0,0162 *2,84*	0,0070 *42,85*	0,0092 *57,15*	0,0327 *5,74*	0,695 *1,22*	5,42 *25,17*	8,44 *66,47*	12,30 *36,67*
4 bis 5h n. *26* sauer	0,678	0,4546 *67,04*	0,0186 *2,74*	0,4360 *64,30*	0,0152 *2,24*	0,0085 *56,00*	0,0067 *44,00*	0,0333 *4,91*	0,792 *1,17*	6,45 *31,62*	7,92 *74,39*	12,47 *49,14*
5 bis 6h n. *24* sauer	0,660	0,4441 *67,30*	0,0225 *3,40*	0,4216 *63,90*	0,0143 *2,16*	0,0048 *33,54*	0,0095 *66,46*	0,0335 *5,07*	0,769 *1,16*	6,28 *37,90*	7,45 *81,84*	12,55 *61,69*
6 bis 7h n. *24* sauer	0,702	0,4717 *67,21*	0,0270 *3,85*	0,4447 *63,36*	0,0146 *2,10*	0,0055 *37,64*	0,0091 *62,36*	0,0362 *5,16*	0,784 *1,12*	6,68 *44,58*	7,60 *89,44*	13,56 *75,25*
7 bis 8h n. *22* sauer	0,720	0,4886 *67,87*	0,0354 *4,92*	0,4532 *62,95*	0,0111 *1,54*	0,0048 *43,30*	0,0063 *56,70*	0,0327 *4,54*	0,794 *1,10*	6,85 *51,43*	5,78 *95,22*	12,30 *87,55*
8 bis 9h n. *20* sauer	0,684	0,4822 *70,48*	0,0411 *6,01*	0,4411 *64,47*	0,0102 *1,50*	0,0040 *38,70*	0,0062 *61,30*	0,0297 *4,34*	0,722 *1,04*	6,50 *57,93*	5,31 *100,53*	11,13 *98,68*
9 bis 10h n. *22* sauer	0,615	0,4631 *75,31*	0,0468 *7,61*	0,4163 *67,70*	0,0109 *1,77*	0,0032 *29,55*	0,0077 *70,45*	0,0252 *4,10*	0,605 *0,99*	5,85 *63,78*	5,68 *106,21*	9,44 *108,12*
10 bis 11h n. *48* sauer	0,541	0,4336 *80,18*	0,0555 *10,26*	0,3781 *69,92*	0,0112 *2,07*	0,0038 *33,82*	0,0074 *66,18*	0,0280 *5,18*	0,475 *0,88*	5,14 *68,92*	5,83 *112,04*	10,49 *118,61*

Tabelle VII (Fortsetzung).

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g %*N*	Ammoniak-Stickstoff g %*N*	Harnstoff-Stickstoff g %*N*	Gesamt-Schwefel *1–100* g *N:S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g %*S*	Neutral-Schwefel g %*S*	Phosphor *1–100* g *P:N*	Kohlenstoff g *C:N*	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
11 bis 12h n.	0,389	0,3152	0.0411	0,2741	0,0106	0,0016	0,0090	0,0323	0,305	3,70	5,52	12,10
24		*81,00*	*10,50*	*70,50*	*2,71*	*14,84*	*85,16*	*8,30*	*0,78*	*72,62*	*117,56*	*130,71*
sauer												
12 bis 1h v.	0,329	0,2730	0,0331	0,2399	0,0082	0,0013	0,0069	0,0310	0,252	3,13	4,27	11,61
20		*83,00*	*10,00*	*73,00*	*2,50*	*16,00*	*84,00*	*9,42*	*0,76*	*75,75*	*121,83*	*142,32*
sauer												
1 bis 9h v.	1,350	1,0850	0,1240	0,9610	0,0590	0,0110	0,0480	0,1055	0,917	12,84	30,74	39,52
105		*80,40*	*9,18*	*71,22*	*4,37*	*18,70*	*81,30*	*7,82*	*0,68*	*88,59*	*152,57*	*181,84*
sauer												
9 bis 9h v.	9,314	6,5692	0,4937	6,0755	0,2929	0,1057	0,1872	0,4852	9,819			
461		*70,55*	*5,30*	*65,25*	*3,14*	*36,10*	*63,90*	*5,21*	*1,05*			

schen abläuft. Die Kurve ist diesmal nicht so steil, obgleich ihr Gipfel etwas höher liegt (Fig. 6; Tab. VII).

Die Ammoniakkurve bietet ein ganz außergewöhnliches Bild. Schon der erste Ansatz zeigt höhere als bei Fleischfütterung auftretende Werte — 1,2%, d. h. fast das 5fache des in der gleichen Zeit bei Verabreichung von Fleisch ermittelten. Die ausgeschiedene Ammoniakmenge nimmt stetig zu, so daß in der 14. Stunde 10% des gesamten Stickstoffes in dieser Form erschienen sind.

Das Maximum für Ammoniak steht in keiner Beziehung mit irgendwelcher Veränderung der untersuchten Harnbestandteile.

Die Stickstoffverteilung zeigt jedoch, daß trotz des Abbaues eines großen Teiles des Alanins ein viel größerer unverändert ausgeschieden worden ist.

Das ersehen wir aus den Amidstickstoffwerten wie auch aus den C:N-Verhältnissen.

Die niedrigsten Werte für den Amidstickstoff traten in den ersten Versuchsstunden auf, als nur 59,0% des Gesamtstickstoffs als Ammoniak und Harnstoff ausgeschieden wurden. Ein ähnlich tiefstehender Wert ist von mir beim Menschen, von Levene beim Hunde beobachtet worden. In Übereinstimmung hiermit findet man C:N-Werte in der Höhe von 1,43, die auf

das Vorwiegen von Substanzen mit hohem Kohlenstoffgehalt im Urin hinweisen. Der Versuch zeigt durchgehend hohe C:N-Verhältnisse.

Der Hund ist wie der Mensch in auffallender Weise unfähig, racemisches Alanin bis in dessen Endprodukte, Harnstoff und Ammoniak, abzubauen.

Man kann die Menge des ungespaltenen, ausgeschiedenen Alanins in folgender Weise berechnen:

Der Amidstickstoff beträgt ungefähr 70,5 % des Gesamtstickstoffs. In Normaltagen bei bedeutend niedrigerer N-Zufuhr traten bei dem Tier Werte für ersteren bis 80 % auf. Nimmt man nun für den Normaltag eine niedrigere Menge, nämlich 80 % an, dann werden 80 % — 70,5 % = 9,5 % des Gesamtstickstoffs als Aminosäurenstickstoff ausgeschieden. Davon muß natürlich der in anderen Formen normal im Harn auftretende Stickstoff abgezogen werden. Da aber die oben angeführten Werte im Verhältnis zu dem Aminosäurenstickstoff schon in Rechnung gestellt sind, so dürfte 10,0 % richtig für die erscheinende unveränderte Alaninmenge veranschlagt sein.

Die Zufuhr von 50 g Alanin schien nicht ohne Wirkung auf das Allgemeinbefinden des Tieres zu sein, denn am folgenden Tage verweigerte es fast jede Nahrungsaufnahme und ließ keinen Harn. Da wir es daher für unratsam hielten, den Versuch an dem Tier fortzusetzen, wählten wir ein neues Versuchsobjekt — einen weißen Bullterrier im Gewichte von 12000 g —, das ebenso erst eine Vorperiode durchmachen mußte. Die Tabelle mit den Daten für den Normaltag dieses Tieres ist zwar unter die übrigen eingereiht, es erübrigt sich aber, sie eingehender zu besprechen. Sie erregt unser Interesse insofern, als sie ein genaues Abbild der ersteren ist, geradezu damit in jeder Richtung als vollständig identisch bezeichnet werden kann.

Cystin.

An diesem Tage wurden 3,0 g ganz aus sechseckigen Tafeln bestehendes Cystin mit einem Gehalt von 11,66 % Stickstoff und 26,67 % Schwefel mit dem Futter vermengt.

Die Kurven, welche den Cystinabbau verbildlichen, sind nicht so charakteristisch wie die beim Menschen erhaltenen, ähneln ihnen aber doch in gewisser Hinsicht (Fig. 7; Tab. VIII).

Eines der ausgeprägtesten Merkmale in dem Versuche dieses Tages ist der ungemein niedrige Wert für den Amid- und Harnstoffstickstoff während der Stunde vor Versuchsbeginn und der darauffolgenden Zeit, verbunden mit einer relativ hohen Ammoniakmenge. Letztere hat zuerst eine Tendenz zum Absinken, doch werden auf der Höhe der Schwefelausscheidung

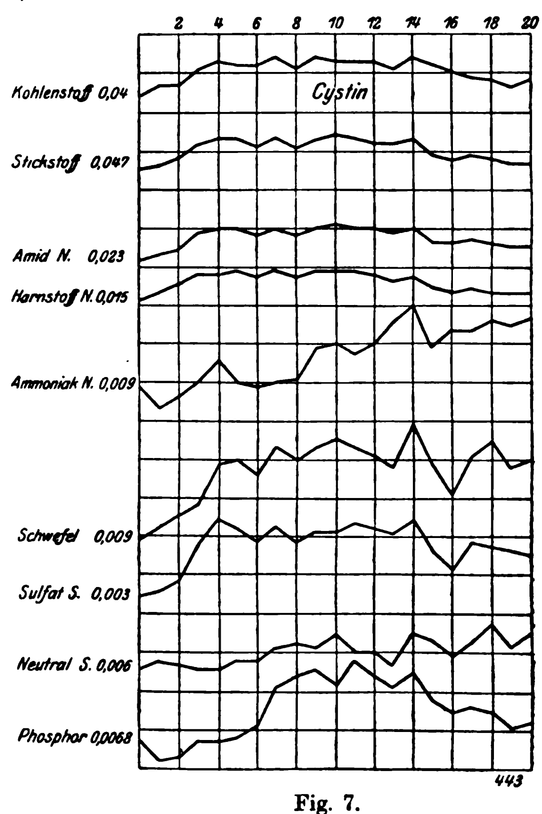


Fig. 7.

äußerst hohe Werte für Ammoniak erzielt. Das ist nicht im Einklang mit meinen am Menschen gefundenen Resultaten — dort wurde eine große Menge der Schwefelsäure mit fixen Alkalien gebunden ausgeschieden, während der Hund das Ammoniak als Neutralisator benützt.

Der Amid- und Ammoniakstickstoff bedürfen keiner besonderen Erläuterung.

Es ist jedoch interessant zu verfolgen, mit welcher Vollständigkeit der Hund Cystin in Sulfate abbaut. Die relativen

Tabelle VIII. Cystin.

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g $^0/_0 N$	Ammoniak-Stickstoff g $^0/_0 N$	Harnstoff-Stickstoff g $^0/_0 N$	Gesamt-Schwefel *1–100* g $N:S$	Ges.-Sulfat-Schwefel g $^0/_0 S$	Neutral-Schwefel g $^0/_0 S$	Phosphor *1–100* g $P:N$	Kohlenstoff g $C:N$	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
9 bis 10^h v. *3*	0,0469	0,0234 *49,9*	0,0085 *18,1*	0,0149 *31,8*	0,0087 *18,6*	0,0028 *32,2*	0,0059 *67,8*	0,0068 *14,5*	0,0402 *0,9*			
10 bis 11^h v. *3* sauer	0,0630	0,0298 *47,3*	0,0034 *5,4*	0,0265 *41,9*	0,0115 *18,3*	0,0036 *31,3*	0,0079 *68,7*	0,0018 *2,9*	0,0752 *1,2*	*2,93*	*1,21*	*0,92*
11 bis 12^h v. *3* sauer	0,0788	0,0533 *67,6*	0,0060 *7,6*	0,0473 *60,0*	0,0145 *18,4*	0,0079 *54,5*	0,0066 *45,5*	0,0026 *3,3*	0,0736 *0,9*	3,67 *6,60*	1,53 *2,74*	1,33 *2,25*
12^h v. bis 1^h n. *6* sauer	0,1214	0,0937 *77,2*	0,0102 *8,4*	0,0835 *68,8*	0,0225 *18,5*	0,0166 *73,8*	0,0059 *26,2*	0,0070 *5,8*	0,1100 *0,9*	5,65 *12,25*	2,31 *5,11*	3,59 *5,84*
1 bis 2^h n. *8* sauer	0,1257	0,1001 *79,6*	0,0153 *12,2*	0,0848 *67,4*	0,0292 *23,2*	0,0236 *80,8*	0,0056 *19,2*	0,0072 *5,7*	0,1306 *1,0*	5,84 *18,09*	3,08 *8,19*	3,69 *9,53*
2 bis 3^h n. *8* sauer	0,1320	0,0980 *74,2*	0,0102 *7,7*	0,0878 *66,5*	0,0303 *23,0*	0,0222 *73,3*	0,0081 *26,7*	0,0077 *5,8*	0,1190 *0,9*	6,14 *24,23*	3,20 *11,39*	3,95 *13,48*
3 bis 4^h n. *9* sauer	0,1108	0,0767 *69,2*	0,0085 *7,7*	0,0682 *61,5*	0,0256 *23,1*	0,0176 *68,8*	0,0080 *31,2*	0,0113 *10,2*	0,1190 *1,1*	5,15 *29,38*	2,10 *14,09*	5,80 *19,28*
4 bis 5^h n. *10* sauer	0,1257	0,0980 *78,0*	0,0102 *8,1*	0,0878 *69,9*	0,0331 *26,3*	0,0222 *67,1*	0,0109 *32,9*	0,0209 *16,6*	0,1360 *1,1*	5,84 *35,22*	3,50 *17,59*	10,72 *30,00*
5 bis 6^h n. *8* sauer	0,1065	0,0810 *76,1*	0,0111 *10,4*	0,0699 *65,7*	0,0299 *28,1*	0,0179 *59,9*	0,0120 *40,1*	0,0243 *22,8*	0,1141 *1,1*	4,95 *40,17*	3,15 *20,74*	12,46 *42,46*
6 bis 7^h n. *10* sauer	0,1342	0,1044 *77,8*	0,0187 *14,0*	0,0857 *63,8*	0,0326 *24,3*	0,0214 *65,6*	0,0112 *34,4*	0,0256 *19,1*	0,1354 *1,0*	6,24 *46,41*	3,44 *24,18*	13,14 *55,60*
7 bis 8^h n. *9* sauer	0,1363	0,1130 *82,9*	0,0196 *14,4*	0,0934 *68,5*	0,0354 *26,0*	0,0211 *59,6*	0,0143 *40,4*	0,0220 *16,2*	0,1300 *0,95*	6,34 *52,75*	3,73 *27,91*	11,28 *66,88*
8 bis 9^h n. *32* sauer	0,1300	0,1044 *80,3*	0,0170 *13,1*	0,0874 *67,2*	0,0326 *25,1*	0,0226 *69,3*	0,0100 *30,7*	0,0280 *21,5*	0,1270 *0,98*	6,05 *58,80*	3,44 *31,35*	14,36 *81,24*
9 bis 10^h n. *17* sauer	0,1235	0,1000 *81,0*	0,0196 *15,9*	0,0804 *65,1*	0,0313 *25,3*	0,0218 *69,7*	0,0095 *30,3*	0,0239 *19,4*	0,1325 *1,1*	5,74 *64,54*	3,30 *34,65*	12,26 *93,50*
10 bis 11^h n. *45* sauer	0,1181	0,0886 *75,0*	0,0245 *20,7*	0,0641 *54,3*	0,0281 *23,8*	0,0208 *74,0*	0,0073 *26,0*	0,0215 *18,2*	0,1060 *0,9*	5,50 *70,04*	2,96 *37,61*	11,03 *104,53*
11 bis 12^h n. *42* sauer	0,1335	0,0966 *72,4*	0,0295 *22,1*	0,0671 *50,3*	0,0393 *29,4*	0,0244 *62,1*	0,0149 *37,9*	0,0250 *18,7*	0,1450 *1,1*	6,21 *76,25*	4,15 *41,76*	12,82 *117,35*

Tabelle VIII (Fortsetzung).

Periode *Harnmenge in ccm* Reaktion	Gesamt-Stickstoff g	Amid-Stickstoff g %N	Ammoniak-Stickstoff g %N	Harnstoff-Stickstoff g %N	Gesamt-Schwefel *1–100* g *N:S*	Ges.-Sulfat-Schwefel g %S	Neutral-Schwefel g %S	Phosphor *1–100* g *P:N*	Kohlenstoff g *C:N*	Prozentische Ausscheidung N	 S	 P
12h n. bis 1h v.	0,0937	0,0596	0,0193	0,0403	0,0286	0,0158	0,0128	0,0182	0,1200	4,36	3,02	9,23
25 sauer		*63,6*	*20,6*	*43,0*	*30,5*	*43,9*	*56,1*	*19,4*	*1,3*	*80,61*	*44,78*	*126,58*
1 bis 2h v.	0,0831	0,0554	0,0230	0,0324	0,0211	0,0122	0,0089	0,0150	0,1040	3,87	2,23	7,69
10 sauer		*66,7*	*27,7*	*39,0*	*25,4*	*57,8*	*42,2*	*18,1*	*1,3*	*84,48*	*47,01*	*134,27*
2 bis 3h v.	0,0936	0,0660	0,0230	0,0430	0,0308	0,0190	0,0118	0,0164	0,0933	4,35	3,25	8,41
15 sauer		*70,5*	*24,6*	*45,9*	*32,9*	*61,7*	*38,3*	*17,5*	*1,0*	*88,83*	*50,26*	*142,68*
3 bis 4h v.	0,0802	0,0554	0,0264	0,0290	0,0343	0,0173	0,0170	0,0147	0,0786	3,73	3,62	7,54
9 sauer		*69,1*	*32,9*	*36,2*	*42,8*	*50,4*	*49,6*	*18,3*	*0,98*	*92,56*	*53,88*	*150,22*
4 bis 5h v.	0,0745	9,0511	0,0238	0,0273	0,0275	0,0162	0,0113	0,0110	0,0720	3,46	2,90	5,64
11 sauer		*68,6*	*31,9*	*36,7*	*36,9*	*58,9*	*41,1*	*14,8*	*0,97*	*96,02*	*56,78*	*155,86*
5 bis 6h v.	0,0745	0,0533	0,0264	0,0269	0,0297	0,0145	0,0152	0,0122	0,0810	3,46	3,13	6,26
8 sauer		*71,5*	*35,4*	*36,1*	*39,9*	*48,8*	*51,2*	*16,4*	*1,1*	*99,48*	*59,91*	*162,12*
6 bis 10h v.	0,2550	0,1775	0,0682	0,1093	0,0895	0,0375	0,0520	0,0600	0,3000	11,86	3,96	30,78
30 sauer		*69,6*	*26,7*	*42,9*	*35,1*	*41,9*	*58,1*	*23,5*	*1,2*	*111,34*	*63,87*	*192,90*
10 v. bis 10h v.	2,3941	1,7559	0,4139	1,3421	0,6574	0,3962	0,2612	0,3763	2,5023			
318		*73,4*	*17,3*	*56,1*	*27,4*	*60,3*	*39,7*	*15,7*	1,05			

Neutralschwefelwerte unterscheiden sich in keinem wesentlichen Punkt von denen des Normaltages, so daß man die gänzliche Umformung des Cystins in seine Endspaltungsprodukte wohl annehmen kann.

Bei kritischer Betrachtung der diesbezüglichen Tabelle tritt uns eine interessante Tatsache entgegen. Bei einem Vergleich der Ausscheidungen der Elementarbestandteile des Harns — Stickstoff, Schwefel und Phosphor — ergibt sich nämlich ein Minus von 11,0 für Stickstoff, während sogar das Doppelte des eingeführten Phosphors ausgeschieden wird. Andererseits erscheinen am ersten Tage nur 63,8% des in der Nahrung enthaltenen Schwefels. Diese Tatsachen lassen mit Deutlichkeit erkennen, bis zu welchem Umfange sich die Umsatzprozesse bei diesen Substanzen unabhängig voneinander abspielen. Denn hier sehen

wir Ausscheidung von überschüssigem Stickstoff, in noch erhöhtem Maße von Phosphor, während gleichzeitig der Schwefel in auffallenden Mengen zurückgehalten wird.

Zusammenfassung.

Es werden an dieser Stelle Versuche über die Ausscheidung von verschiedenen Harnbestandteilen nach Verfütterung von rohem und gekochten Fleisch, Alanin und Cystin am Hunde mitgeteilt. Sie dienen zur Vervollständigung der vom Verfasser früher am Menschen ausgeführten Untersuchungen.

Die stündliche Stickstoffausscheidung nach Eiweißaufnahme unterscheidet sich bei diesen zwei Versuchsindividuen insofern, als beim Menschen der Abbau des ungekochten Eiweißes mit größerer Schwierigkeit vor sich geht.

Ein fundamentaler Unterschied in bezug auf die Schnelligkeit beim Abbau des gekochten Eiweißes besteht nicht zwischen Mensch und Hund. Wenn überhaupt einer zu verzeichnen ist, so erscheinen die Ausscheidungskurven beim Menschen etwas steiler als beim Hunde.

Bei letzterem scheint die Cystingruppe des Proteinmoleküls nicht vor dem N-haltigen Bruchteil angegriffen zu werden, was aus einem Vergleich der Cystinfütterung am Menschen und Hunde hervorgeht. Die Spaltung des Cystins geht bei letzterem, wie man aus seiner Umformung in Sulfate ermitteln kann, langsamer vor sich.

Auch Alanin wird anscheinend beim Hunde allmählicher als beim Menschen abgebaut.

Bezüglich der stündlichen Ausscheidungsweise der Harnkomponenten ist kein Hauptunterschied zwischen Mensch und Hund zu beobachten. Zur Neutralisierung saurer Produkte scheint der Hund in gewissen Fällen Ammoniak anstatt der vom Menschen verwendeten fixen Alkalien mit Vorliebe heranzuziehen. Doch bringen diese Versuche nicht den endgültigen Beweis für diese Behauptung.

Zur Kenntnis des Schwefelstoffwechsels der Krebskranken.

Von

Nagataka Murachi (Tokio).

(Aus der I. medizinischen Klinik in Wien.)

(Eingegangen am 25. März 1912.)

Der intermediäre Eiweißumsatz dürfte bei Krebskranken anders als bei Gesunden verlaufen.

Neue Anhaltspunkte hierfür lieferten die Untersuchungen von Salomon und Saxl[1]) über die prozentuale Oxyproteinsäurevermehrung im Harne Krebskranker, von E. Salkowski[2]) über die Vermehrung des kolloidalen Stickstoffs, von Falk, Salomon und Saxl[3]) über die Vermehrung des Polypeptidstickstoffs im Harne der Carcinomatösen. Hiermit im Einklang standen die von mir erhobenen Befunde über abnormale prozentuale Harnstoffausfuhr[4]) und endlich die von M. Weiß[5]) gefundene relativ vermehrte Neutralschwefelausfuhr bei Krebskranken.

Salomon und Saxl[6]) untersuchten die Neutralschwefelfraktion des Harnes Krebskranker näher, indem sie der Art der Schwefelbindung in der Neutralschwefelfraktion nachgingen. Sie fahndeten vergeblich bei Carcinomatösen nach Cystin, Cystein und Taurin; hingegen beobachteten sie gelegentlich, daß eine geringe Menge Wasserstoffsuperoxyd, die nach Entfernung des sauren Schwefels zu Entfärbungszwecken dem Harne zugesetzt wurde, neuerdings eine gewisse Quantität Schwefel zu Sulfat oxydierte.

Ich habe nun diese leicht oxydable Schwefelfraktion einer näheren Untersuchung unterzogen. Denn wiewohl der Oxy-

---

[1]) H. Salomon und P. Saxl, Beitr. z. Carcinomforschung aus d. I. med. Klinik in Wien (Prof. C. v. Noorden **1910**, Heft 2, S. 29.

[2]) E. Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. **1910**.

[3]) F. Falk, H. Salomon und P. Saxl, Med. Klinik **1910**, Nr. 13, S. 150.

[4]) N. Murachi, Beitr. zur Carcinomforschung aus der I. med. Klinik in Wien (Prof. v. Noorden) **1910**, Heft 3, S. 106.

[5]) M. Weiß, diese Zeitschr. **27**.

[6]) H. Salomon und P. Saxl, Wiener klin. Wochenschr. **1911**; Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 2.

proteinsäureschwefel und Neutralschwefel zum großen Teil identisch sein dürften, kennt man doch einerseits mehr oder minder regelmäßig auftretende, dem sog. Neutralschwefel zuzuordnende Schwefelbestandteile, die nicht der Oxyproteinsäure angehören (Taurocarbaminsäure, Schwefelwasserstoff, Schwefelharnstoff); andererseits ist die Isolierung der Oxyproteinsäuren keine so scharfe, daß in dieser besonders beim Carcinom mächtigen Fraktion sich nicht auch andere Substanzen als die normalen Oxyproteinsäuren finden dürften.

Unsere Aufgabe war, zu untersuchen, ob die obengenannte leicht oxydable S-Fraktion wirklich dem Neutralschwefel angehört und wieviel Teile vom Gesamt- bzw. Neutralschwefel beim carcinomatösen sowie beim nicht carcinomatösen Kranken auf diese Fraktion entfallen, und weiter, ob irgendwelche Schwefelverbindungen beim Carcinom eine Vermehrung gegenüber anderen zeigen, falls wirklich hier eine Schwefelstoffwechselanomalie vorherrscht.

Unsere Untersuchungsmethode folgte den Angaben von Salomon und Saxl[1]): 100 ccm eiweißfreien (bzw. durch Aufkochen nach Zusatz von etwas Essigsäure enteiweißten) Harns wurden mit 10 ccm Salzsäure (spez. Gew. 1,12) versetzt, bis knapp zum Sieden erhitzt, mit 200 ccm siedend heißem Wasser verdünnt, und danach wurden 10 bis 15 ccm einer erwärmten 10°/$_0$igen Bariumchloridlösung zugesetzt; sodann wurde 6 Stunden auf dem Wasserbad und hierauf 24 Stunden bei Zimmertemperatur absetzen gelassen und durch doppeltgelegte Barytfilter (Max Dreverhoff 311) zweimal filtriert; in einem Erlenmeyerkolben mit aufgesetztem Trichterchen wurde dann nach Zusatz von 3 ccm Perhydrol $^1/_4$ Stunde schwach im Sieden erhalten. Nun wird die Probe in ein Spitzglas gegossen. Wenn dessen Boden nach 24 Stunden ein reichlicher brauner Niederschlag ausfüllt, der aus Bariumsulfat und ihn verunreinigenden Massen besteht, haben wir die Reaktion in Tabelle I als positiv (+), wenn dagegen sich nur ein ganz spärlicher Niederschlag zeigt, als ∅ negativ bezeichnet. Der hier gewonnene Niederschlag wurde vorsichtig auf dem vorher befeuchteten, aschefreien Filterchen gesammelt,

[1]) H. Salomon und P. Saxl, Wiener klin. Wochenschr. **1911**; Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 2.

mit heißem Wasser, Alkohol und dann Äther gewaschen, in der Platinschale geglüht und als Bariumsulfat gewogen.

Bevor ich auf meine Untersuchungen eingehe, müssen wir drei Fragen, welche sich auf die verwendete Methodik selbst beziehen, beantworten:

1. Fällt bei Kontrollproben an derselben Harnportion die Menge des also oxydierten Schwefels gleich aus?

2. Ist es gleichgültig, mit welcher Menge von Wasserstoffsuperoxyd und

3. wie lange oxydiert wird?

Die erste Frage wird durch folgenden Versuch beantwortet, in welchem stets zwei Portionen als Kontrollen parallel behandelt wurden:

Diagnose	Gewicht des $BaSO_4$ in g	
	I.	II.
Carc. coli	0,008	0,012
Carc. ventric. . . .	0,015	0,014
Carc. ventric. . . .	0,0089	0,0086
Carc. oesophagi . .	0,018	0,016

Die zweite Frage erscheint in der nächsten Versuchsanordnung behandelt. Von zwei parallel ausgeführten Proben wurde die eine (a) mit 3 ccm, die andere (b) mit 10 ccm Wasserstoffsuperoxyd oxydiert.

Diagnose	Gewicht des $BaSO_4$ in g	
	a.	b.
Carc. oesophagi . .	0,018	0,0163
Scirrhus mammae .	0,0086	0,0085

Der dritten Frage gelten die nächsten Versuche. Von zwei parallel ausgeführten Proben wurde die eine $^1/_4$ Stunde, die andere $^1/_2$ Stunde lang mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert.

Diagnose	Gewicht des $BaSO_4$ in g	
	$^1/_4$ Std.	$^1/_2$ Std.
Carc. oesophagi . .	0,018	0,020
Carc. intest.	0,0084	0,0080

Die Zusammenfassung der drei Versuchsreihen zeigt, daß die Oxydation der gleichen Schwefelmenge sowohl in parallelen Kontrollproben als auch bei geringerem oder stärkerem Wasserstoffsuperoxydzusatz, wenigstens in gewissen Grenzen, und schließlich auch bei länger oder kürzer dauernder Oxydation stattfindet.

Es erhob sich nun die Frage: Gehört die hier in Rede stehende Schwefelfraktion wirklich dem Neutralschwefel an oder handelt es sich etwa um Bariumsulfat, das nach der Aufspaltung der Ätherschwefelsäuren noch in Lösung geblieben war und erst späterhin ausfiel? Diese Frage zu entscheiden, wurde der Harn nach Entfernung des gesamten Schwefels mit Na-Lauge alkalisch gemacht; hierdurch fallen alle Bariumsulfatreste, die etwa zurückgeblieben sein könnten, aus, da Bariumsulfat in Alkali vollkommen unlöslich ist; dann wurde mit etwas Salzsäure sauer gemacht und nach Zusatz einer geringen Menge Bariumchloridlösung mit Wasserstoffsuperoxyd wie oben oxydiert. Eine Kontrollprobe wurde wie gewöhnlich durchgeführt.

Diagnose	Gewicht des $BaSO_4$ in g	
		Kontrolle
Carc. ventric. . . .	0,007	0,010
Carc. recti	0,0085	0,010
Carc. oesophagi . .	0,013	0,016

Aus dieser Zusammenstellung ersehen wir, daß nur geringe Differenzen bestehen zwischen den Resultaten des Kontrollversuches und jenen, welche nach der vorherigen Entfernung des etwa aus dem sauren Schwefel stammenden Bariumsulfats durch Alkalizusatz gewonnen wurden. Wir können also die Behauptung aufstellen, daß sich die mit Wasserstoffsuperoxyd in geringer Menge oxydierbare Schwefelfraktion wirklich aus keinem anderen als einem Teile des neutralen Schwefels bildet.

Nach Feststellung dieser Tatsachen ging ich daran, diese Schwefelfraktion in ihrem prozentualen Anteil zum neutralen und zum gesamten Schwefel zu bestimmen. Es wurde die Tagesmenge von Patienten, welche bei gemischter Kost gehalten wurden, gesammelt. Der Gesamtschwefel wurde in 10 ccm Harn nach Abderhalden und Casimir[1]) bestimmt. Der Neutralschwefel wurde durch Differenz aus dem Gesamtschwefel und dem sauren Schwefel von 100 ccm berechnet; letzterer wurde nach Salkowski wie oben erwähnt ausgefällt. Im Filtrat wurde dann mit Wasserstoffsuperoxyd oxydiert und der Niederschlag wie üblich als Bariumsulfat gewogen. Diese Bariumsulfatmenge wurde in Tabelle I Kolonne „S.-S." eingeführt.

---

[1]) Abderhalden und Casimir, Zeitschr. f. phys. Chem. 58, 331, 1909.

Tabelle I. (Anmerkung: Die mit H_2O_2 leicht oxydable Fraktion wird hier in der Tabelle unter „S.-S." angeführt.

Diagnose	Harnmenge pro die in ccm / Spez. Gew.	Menge pro 100 ccm Harn in g an					Menge im Tagesharn in g an					% vom Gesamtschwefel			% v. Neutralschwefel S.-S.	Ausfall der Reaktion S.-S.
		Gesamt-N	Gesamt-S	SO_3-S	Neutral-S	S.-S.	Gesamt-N	Gesamt-S	SO_3-S	Neutral-S	S.-S.	SO_3-S	Neutral-S	S.-S.		
Carc. ventric.	— / 1011	—	0,3520	0,2720	0,0800	0,0080	—	—	—	—	—	77,3	22,7	2,3	10,0	schwach +
	550 / 1027	—	0,3120	0,2476	0,0644	0,0085	—	1,7180	1,3618	0,3542	0,0468	79,4	20,6	2,7	13,2	mäßig +
Carc. intest.	800 / 1006	0,3752	0,1790	0,1459	0,0331	—	3,0016	1,4320	1,1672	0,2648	—	81,5	18,5	—	—	mäßig +
Cholethiasis; Icterus; Fieber	1100 / 1012	0,6832	0,7060	0,6318	0,0742	0,0053	7,5152	7,7660	6,9498	0,8162	0,0583	89,5	10,5	0,8	7,1	∅
Carc. (?) colonis	800 / 1020	—	0,6450	0,4473	0,1977	0,0120	—	5,1600	3,5784	1,5816	0,0960	69,3	30,7	1,9	6,1	++
Milztumor, Fieber, Tuberculosis subacuta?	1200 / 1012	—	? 0,3000	0,2668	0,0332	0,0064	—	? 3,6000	3,2016	0,3984	0,0768	88,9	11,1	2,1	19,3	∅ spurw. Niederschl.
	— / —	1,1256	0,4850	0,4424	0,0426	0,0080	—	—	—	—	—	91,2	8,8	1,7	18,8	?
Pneumonia biliosa, Lues	— / 1012	—	0,4750	0,3028	0,1722	0,0045	—	—	—	—	—	63,7	36,3	0,9	26,1	∅
Tumor hepatis; Carc.?	1270 / 1015	—	0,2200	0,1836	0,0364	0,0078	—	2,7940	2,3317	0,4623	0,0991	83,5	16,5	3,4	20,9	+
Hämophilie, Lebertumor	1300 / 1021	1,3268	0,6900	0,6464	0,0436	0,0074	17,2718	8,9700	8,4032	0,5668	0,0962	93,7	6,3	1,1	17,0	∅ spurw. Niederschl.
	1400 / 1017	—	0,5950	0,5306	0,0644	0,0067	—	8,3300	7,4284	0,9016	0,0938	89,2	10,8	1,1	10,4	∅
Phthisis pulmon.	1000 / 1015	0,6412	0,3650	0,2852	0,0798	0,0044	6,4120	3,6500	2,8520	0,7980	0,0440	78,1	21,9	1,2	5,5	∅
Carc.?	600 / 1025	—	0,6220	0,5730	0,0490	0,0076	—	3,7320	3,4380	0,2940	0,0456	92,1	7,9	1,2	15,5	∅
Pneumonia caseosa; Tuberc.	1400 / 1014	—	0,3500	0,3307	0,0193	0,0040	—	4,9000	4,6298	0,2702	0,0560	94,5	5,5	1,1	20,7	∅

Uterus-Carc.	540 / 1018	—	0,7990	0,6632	0,1358	0,0176	—	4,3146	3,5813	0,7333	0,0950	83,0	17,0	2,2	12,0	++
	870 / 1016	1,2712	0,5680	0,4296	0,1384	0,0136	11,0594	4,9416	3,7348	1,2041	0,1183	75,6	24,4	2,4	31,7	+++
Carc. Ves. felleae	700 / 1016	—	0,3000	0,1183	0,1817	0,0115	—	2,1000	0,8281	1,2719	0,0805	39,4	60,6	3,8	6,3	++
Tubercul. peritonei	1400 / 1012	—	0,3530	0,3037	0,0493	0,0049	—	4,9420	4,2518	0,6902	0,0686	86,0	14,0	1,4	9,9	∅
Vitium cordis	700 / 1029	—	0,6950	0,6566	0,0384	0,0076	—	4,8650	4,5962	0,2688	0,0532	94,5	5,5	1,1	19,8	∅
Cirrhose broncée; Diabetes	800 / —	0,5068	0,2750	0,2405	0,0345	0,0035	4,0544	2,2000	1,9240	0,2760	0,0280	87,5	12,5	1,3	10,1	∅
Tubercul. pulmon.	2300 / 1014	0,5960	0,3020	0,2571	0,0449	0,0028	1,3717	0,6946	0,5913	0,1033	0,0064	85,1	14,9	0,9	29,5	∅
Typhus abdom.	1200 / 1021	—	0,8860	0,6213	0,2647	0,0016	—	10,6320	7,4556	3,1764	0,0192	70,1	29,9	0,2	0,6	∅
Autointoxikation (Enteritis)	750 / 1017	1,5876	0,7250	0,5482	0,1768	0,0022	11,9070	5,4375	4,1115	1,3260	0,0165	75,60	24,4	0,3	1,2	∅
Struma benigna	700 / 1015	00 58	0,5310	0,4182	0,1128	—	3,6406	3,7170	2,9274	0,7896	—	78,8	21,2	—	—	∅
Leukämie	1400 / 1010	0,5712	0,3640	0,2652	0,0988	0,0014	7,9968	3,6960	3,7128	1,3832	0,0196	72,9	27,1	0,4	1,4	∅
Lebercirrhose	550 / 1026	—	1,0160	0,7831	0,2329	?	—	5,5880	4,3071	1,2810	?	77,1	22,9	—	—	∅
Pleuritis tubercul. Carc. ?	900 / 1012	0,0948	0,4740	0,3790	0,0950	0,0099	8,5932	4,2660	3,4110	0,8550	0,0891	80,0	20,0	2,1	10,4	++
	500 / 1027	1,4980	0,6540	0,5692	0,0848	?	7,4900	3,2700	2,8460	0,4280	?	87,0	13,0	—	—	
Carc. ventric.	400 / 1028	2,1490	1,0360	0,8383	0,1977	0,0127	8,5960	4,1440	3,3532	0,7908	0,0508	80,9	19,1	1,2	6,4	++
Morbus addisoni	1400 / 1012	—	0,6460	0,5349	0,1111	0,0051	—	9,0440	7,4886	1,5554	0,0714	82,8	17,2	0,8	4,6	∅
Morbus Basedowi m. Gelenkrheumat.	900 / 1024	—	0,9020	0,6224	0,2796	0,0080	—	8,1180	5,6016	2,5160	0,0720	69,0	31,0	0,9	2,9	∅
Meningitis tubercul.	1600 / 1012	—	0,5390	0,4177	0,1213	0,0036	—	8,6240	6,6832	1,9408	0,0576	77,5	22,5	0,7	3,0	∅

Wie aus der Tabelle ersichtlich, ist die Gesamtschwefelausscheidung der Krebskranken wechselnd; ebenso die absolute Menge des ausgeschiedenen Neutralschwefels. Die Relation des Neutralschwefels zum Gesamtschwefel ist im allgemeinen höher als beim Normalen — wie schon M. Weiß[1]) gefunden hat, wenn auch einige Fälle in der Tabelle hiervon eine Ausnahme machen. Im großen und ganzen ist die absolute Menge der nach Salomon und Saxl oxydierten Fraktion in 100 ccm Harn dort, wo die Reaktion positiv ausfiel, stets wesentlich höher als beim Nichtkrebskranken; auch für jene Normalfälle gilt das, in denen eine Spur Niederschlag im Spitzglas auftrat. Die Relation dieses Schwefels zum Gesamtschwefel ist bei Krebskranken gleichfalls wesentlich erhöht (bis zu 3,8% davon) gegenüber dem Nichtkrebskranken. Eine ziffernmäßige Beziehung zum Neutralschwefel läßt sich nicht feststellen, da diese in großen Intervallen schwankt.

Hier ist aber noch zu betonen, daß, wenn schon die Differenzen der Quantität des Niederschlages zwischen carcinomatösem und nicht carcinomatösem Harn merklich waren — sie schwankten bei Krebskranken von 0,008 bis 0,017 g, bei Normalen von 0,002 bis 0,008 g — doch noch außerdem eine qualitative Verschiedenheit auftrat. Letztere äußert sich dadurch, daß der Niederschlag des Krebsharnes — abgesehen von bräunlicher Verunreinigung — auffällig voluminöser aussieht als der des nichtcarcinomatösen Harnes. Diese Erscheinung deutet darauf hin, daß schon die Vorstufe des Niederschlages bei Carcinom etwas anders konstituiert sein dürfte als bei anderen Erkrankungen.

Die zwei Tatsachen: die Vermehrung der absoluten Menge des Niederschlages in 100 ccm eines carcinomatösen Harnes einerseits und die qualitative Verschiedenheit gegen den normalen Fall andererseits können in sinngemäßer Vereinigung ein klinisches Hilfsmittel der Diagnose von großem Nutzen ergeben.

Wir legen besonders großes Interesse auf die Tatsache des erhöhten Prozentsatzes der S.-S.-Fraktion zum Gesamtschwefel bei Carcinom; von den Schwankungen der Relation zum Neutralschwefel bleibt nicht viel zu sagen übrig. Denn es ist möglich, daß trotz vermehrter S.-S.-Fraktion infolge des noch mehr ver-

---

[1]) M. Weiß, l. c.

mehrten Neutralschwefels diese Relation verhältnismäßig niedrig ausfällt und umgekehrt. Von jener Relation aus können wir einen neuen Ausblick auf das Gebiet des Schwefelstoffwechsels bei Krebskranken gewinnen. Denn vor allen Dingen lassen die oben angeführten Befunde die Auffassung zu, daß bei Carcinom der mit Wasserstoffsuperoxyd leicht oxydable Teil des Neutralschwefels vermehrt ist, d. h. irgendeine schwefelhaltige Substanz nicht zu Ende oxydiert wird, sondern als mangelhaft oxydierter Körper ausgeschieden wird; diese Substanz dürfte die Trägerin der genannten Oxydationsreaktion sein.

Über diese Vorstufe können wir leider noch keine genaueren Angaben machen, und zwar besonders deshalb nicht, weil, wie schon erwähnt, bereits vergeblich nach Cystin, Cystein und Taurin geforscht wurde. Von Interesse ist es aber, daß ein Zusatz von 1 ccm $^{n}/_{10}$-Na-Thiosulfatlösung zum normalen Harn und ferner von 0,03 g Taurin die S.-S.-Fraktion bedeutend erhöht.

Nach der Konstatierung dieser Tatsachen war meine Aufmerksamkeit besonders auf das etwaige Vorkommen von Übergangsprodukten zwischen dem völlig oxydierten Sulfat und dem mangelhaft oxydierten Neutralschwefel gerichtet. Dieser Gedanke hat mich auf die Untersuchung nach unterschwefliger Säure geführt. Wie bekannt, wurde diese Säure bisher im Menschenharn nicht oder nur spurenweise (nach Angabe von Salkowski und Presch[1]) nicht einmal mehr als 10 mg in 1 l Harn) gefunden, während sie bei manchen Tieren einen fast normalen und ziemlich beträchtlichen Bestandteil des Harnes ausmacht. Von pathologischen Zuständen heben wir nur zwei Berichte über die Vermehrung der unterschwefligen Säure aus der Literatur hervor: jenen von v. Strümpell[2]) bei Typhus abdominalis und jenen von Spiegel[3]) bei Cystinurie; letzterer hat die Abstammung dieser Säure im Cystin gefunden, und in der Tat wurde in vitro von ihm und auch von anderen [C. Neu-

[1]) E. Salkowski und Presch, von Huppert zitiert, Analyse d. Harnes, S. 19.

[2]) v. Strümpell, Arch. d. Heilk. 17, 390.

[3]) S. Spiegel, Virchows Arch. 166, 364, 1901.

berg und P. Mayer[1])] nachgewiesen, daß das Cystin durch Oxydation in alkalischer Lösung leicht in die unterschweflige Säure übergeht.

Es ist uns nun gelungen, in einigen pathologischen Harnen unterschweflige Säure nachzuweisen — bei manchen Fällen sogar in nicht unwesentlicher Menge. Zur Erreichung dieses Zweckes verwendete ich die Methode von Presch[2]). Bekanntlich besteht sie darin: aus einem durch Bariumhydroxyd stark alkalisch gemachten Harn mittels Bariumnitrat die gesamten Sulfate und Phosphate auszufällen und das Filtrat durch Zusatz von Ammoniak und Ammoniumcarbonat völlig vom Barium zu befreien, diesem Filtrat nach der Neutralisation mit verdünnter Salpetersäure in mäßigem Überschuß die Silbernitratlösung hinzuzufügen und gelinde zu erwärmen. Das neuerliche Filtrat wird stark eingeengt und wieder filtriert, mit Bariumnitratlösung versetzt, nach 24stündigem Stehenlassen abfiltriert, mit Wasser vom Salz und mit Ammoniak vom Chlorsilber befreit. Dieser Niederschlag wurde als Bariumsulfat durch Wägung wie gewöhnlich bestimmt.

Hier seien noch einige Momente bemerkt, welche etwa fehlerhafte Resultate verursachen könnten. Eines beruht auf der Leichtreduzierbarkeit des Silbernitrats; so kommt es oftmals vor, daß die reduzierten Silberklümpchen bei der letzten Filtration auf dem Filterpapier haften bleiben. Das zu vermeiden, habe ich immer nach den Auswaschungen mit Ammoniak und Wasser wiederholt mit verdünnter Salpetersäure ausgespült und dann nochmals mit Wasser ausgewaschen. Eine andere Fehlerquelle liegt darin, daß sich die Ätherschwefelsäure beim Erwärmen in der ganz schwachen Säurereaktion teilweise spalten könnte; deshalb habe ich das Material bei der Neutralisation knapp neutral — hier erscheint oftmals amphotere Reaktion — oder vielmehr spurweise alkalisch bleiben lassen. Die hier gewonnenen Resultate sind in der Tabelle II übersichtlich vereinigt.

Wir sehen aus der Tabelle folgendes:

Von 5 Carcinomfällen haben 2 eine deutliche Vermehrung gezeigt, von 2 carcinomverdächtigen Fällen gab einer einen

---

[1]) C. Neuberg und P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 472, 1904.

[2]) Presch, Virchows Archiv 119, 163.

mäßigen Wert und der andere einen negativen Befund, während 3 gesunde Fälle negatives Resultat zeigten; je ein Fall von Icterus und Typhus abdominalis ergab deutliche Vermehrung, dagegen je ein Fall von Leber-Cirrhosis und von Tuberkulose fast negatives Resultat und ein Fall von Sepsis einen mäßigen Wert.

Tabelle II.

Diagnose		$BaSO_4$ in mg in 100 ccm Harn	$H_2S_2O_3$ in mg für 1 l Harn gerechnet	Ausfall der S.-S.-Reaktion
Gesund		0,1	0,5	Ø
Gesund		0,2	1,0	Ø
Gesund		—	—	Ø
Typhus abdom.		3,9	19,1	Ø
Sepsis		1,1	5,4	Ø
Cirrhosis hep.		—	—	Ø
Icterus catarrh.		6,0	29,3	Ø
Phthisis pulmon.		0,1	0,5	Ø
Nierentumor		1,3	6,4	+
Carc. ventr.?		0,6	2,9	Ø
Carc. ventr.		0,6	2,9	+
Bronchialcarcinom		0,7	3,4	+
Netzcarcinom		3,4	16,6	+
Carc. intestin.	5. XII. 11	2,9	14,2	+
	8. XII. 11	2,9	14,2	+
Carc. ventric.	16. XII. 11	0,1	0,5	Ø
	21. XII. 11 Gewöhnl. Verfahren	0,4	2,0	+
	21. XII. 11 Vorher mit[1]) Alkali gekocht	3,4	16,6	—

Obzwar wegen der Umständlichkeit der Methode und der Kleinheit der aufgefundenen Mengen unterschwefliger Säure manche Fehler unterlaufen können, darf man die Differenzen in den einzelnen Harnen doch nicht diesen Fehlern allein zuschreiben. Dafür könnte die Tatsache sprechen, daß der Silberniederschlag beim Erwärmen dort, wo eine Vermehrung der unterschwefligen Säure resultiert — besonders deutlich bei einem Falle von Darmcarcinom — schwarze Färbung zeigte, was vielleicht von dem durch Spaltung entstandenen Schwefelsilber herrührt. Eine direkte Beziehung der größeren Menge dieser Säure zur S.-S.-Schwefelfraktion ließ sich jedoch, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, nicht feststellen. Und ich will auch

[1]) Ich habe hier den Harn vor Anstellung der $H_2S_2O_3$-Bestimmung 5 Minuten lang mit 10%iger NaOH gekocht.

nicht behaupten, daß die Vermehrung der unterschwefligen Säure für Carcinom spezifisch sei; doch gelangt man zur Überzeugung, daß meine Anschauung vom Auftreten einer Übergangsstufe zu den völlig oxydierten Schwefelverbindungen im carcinomatösen Organismus wohl begründet erscheint. Diese Tatsache im Schwefelhaushalt des Organismus dürfte wohl in gleichem Sinne aufzufassen sein, wie jene früheren Befunde im Carcinomharn, nämlich die Verminderung des Harnstoffprozentsatzes[1]) und die Vermehrung der Aminosäuren und Polypeptide[2]) auf dem Gebiete des Stickstoffhaushaltes.

Wir haben gesehen, daß ein carcinomatöser Harn, vorher mit Alkali zum Sieden gebracht, eine nicht unwesentliche Menge von unterschwefliger Säure ergab, während er nach dem gewöhnlichen Verfahren negativ reagiert hatte. Diese Tatsache ist nicht ohne Interesse, wenn wir uns nochmals unserer oben erwähnten Anschauung zuwenden, daß bei Carcinom verschiedene Vorstufen der Schwefelverbindungen bis zum vollständig oxydierten Sulfate im Harn ausgeschieden würden. Es ist mir allerdings nicht bekannt, wo eigentlich die Quelle der oben angeführten Vermehrung der unterschwefligen Säure im alkalisch gekochten Harn zu suchen ist; wegen seiner chemischen Konstitution und anderer Momente richtet sich die Vermutung wohl auf Cystin, doch da man diesen Stoff im carcinomatösen Harn, wie gesagt, bisher nicht auffinden konnte, muß diese Frage noch offen bleiben.

Zusammenfassend möchte ich folgendes sagen:

Beim Carcinomkranken besteht eine Schwefelstoffwechselanomalie, die sich in verschiedenen Oxydationsgraden des Schwefels äußert.

Die mit Wasserstoffsuperoxyd in geringer Konzentration leicht oxydierbare Schwefelfraktion, die beim Krebskranken in reichlicher, beim Normalen in wesentlich geringerer Menge oder nur in Spuren vorkommt, gehört dem Neutralschwefel an. Sie beträgt beim Krebskranken bis zu 3,8 % des Gesamtschwefels.

Der Schwefel dürfte teilweise einer SO_2-Gruppe angehören.

---

1) N. Murachi, l. c.

2) F. Falk, H. Salomon und P. Saxl, l. c.

Über das Vorkommen proteolytischer Fermente in Exsudaten und den Nachweis von Aminosäuren in denselben.

Von

K. Wiener.

(Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik Erlangen.)

(*Eingegangen am 27. März 1912.*)

Daß der Autolyse analoge Vorgänge auch im lebenden Organismus bei pathologischen Prozessen eine gewisse Rolle spielen, ist schon längere Zeit bekannt.

Als erster fand Friedrich Müller[1]), daß in pneumonischen Lungen, die im Stadium der grauen Hepatisation waren, die typischen Produkte der Autolyse, Leucin und Tyrosin, in erheblichen Mengen vorkamen. Müller nahm bereits an, daß bei diesem Prozeß das Ferment der Leukocyten das wirksame Prinzip sei. Die Rolle, die das Leukocytenferment bei normalen und krankhaften Vorgängen spielt, ist unter anderem von Müller und Jochmann[2]) mit Hilfe ihrer Serumplattenmethode untersucht worden. Sie stellten fest, daß nur die polymorphkernigen Leukocyten ein proteolytisches Ferment enthalten, während in Lymphocyten ein solches nicht gefunden werden konnte. Folgerichtig fanden sie ein sehr stark wirksames Ferment im gewöhnlichen Eiter, während tuberkulöser Eiter davon frei war. Ebenso war das Ferment bei myeloider Leukämie im Blut vorhanden, während es bei lymphoider fehlte.

Abnorme fermentative Vorgänge wurden auch in malignen Tumoren festgestellt. Petry[3]) und später S. Yoshimoto[4]) fanden eine Ver-

---

[1]) Fr. Müller, Über die Bedeutung der Selbstverdauung bei krankhaften Zuständen. Verhdl. d. 20. Kongr. f. inn. Med.

[2]) Müller und Jochmann, Über eine einfache Methode zum Nachweis proteolytischer Fermentwirkungen. Münch. med. Wochenschr. 1906, Nr. 26 u. f.

[3]) E. Petry, Beiträge zur Chemie der malignen Geschwülste II. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 94, 1903.

[4]) S. Yoshimoto, Beiträge zur Chemie der Krebsgeschwülste. Diese Zeitschr. 22, 299, 1909.

stärkung des autolytischen Prozesses in bösartigen Tumoren. Emerson[1]) beobachtete, daß ein Zusatz von ungekochtem Krebsmaterial die peptische Verdauung steigert. C. Neuberg[2]) fand als erster, daß atypisch hydrolysierende Enzyme in der Krebszelle vorhanden sind. Er sowie Blumenthal und Wolff[3]) stellten ferner fest, daß ein Zusatz von Carcinomsaft zu normalem Organbrei die Autolyse stark fördert. E. Abderhalden brachte in Gemeinschaft mit P. Rona[4]), H. Koelker, F. L. Medigreceanu[5]) und L. Pinkussohn[6]) Aufklärung über die proteolytischen Fermente in Tumoren. Sie konnten zeigen, daß die letzteren sehr häufig ungewöhnlich stark und auf ungewöhnliche Weise wirkende Fermente enthielten. Neubauer und Fischer fanden, daß von Carcinomen proteolytische Fermente sezerniert werden. Fischer[7]) stellte im carcinomatösen Magensaft das Vorhandensein von Leucin, Tyrosin, Arginin und Lysin fest und Neubauer und Fischer[8]) konnten das Ferment, das diese tiefgehende Eiweißspaltung bewirkt, durch die Spaltung von Glycyltryptophan nachweisen.

Bei der Diagnostik der Exsudate können diese Verhältnisse praktische Bedeutung gewinnen. Müller[9]) hat sich mit ihrer Untersuchung befaßt und gefunden, daß der Fermentgehalt in Exsudaten vollkommen von dem Gehalt an polymorphkernigen Leukocyten ab-

---

[1]) Ch. P. Emerson, Einfluß des Carcinoms auf die gastrische Verdauung. Deutsches Archiv f. klin. Med. 72, 415, 1902.

[2]) C. Neuberg, Chemisches zur Carcinomfrage II. Berl. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 5. III. Arbeiten aus dem path. Inst. Berlin 1906, 593.

[3]) Blumenthal und Wolff, Über Fermentwirkung bei Krebsgeschwülsten. Med. Klin. 1, 166, 1905.

[4]) E. Abderhalden und P. Rona, Zur Kenntnis der proteolytischen Fermente verschiedener Krebse. Zeitschr. f. phys. Chem. 60, 415, 1909.

[5]) E. Abderhalden, H. Koelker und Fl. Medigreceanu, Zur Kenntnis der proteolytischen Fermente verschiedener Krebse und andrer Tumorarten II. und III. Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 415, 1909; 68, 265, 1910.

[6]) E. Abderhalden, Die Anwendung der optischen Methode auf dem Gebiete der Physiologie. Verhdl. d. physiol. Ges. 1910/11, S. 101.

[7]) H. Fischer, Zur Kenntnis des carcinomatösen Mageninhaltes. Arch. f. klin. Med. 93, 98, 1907.

[8]) Neubauer und Fischer, Über das Vorkommen eines peptidspaltenden Fermentes im carcinomatösen Mageninhalt und seine diagnostische Bedeutung. Arch. f. klin. Med. 97, 499, 1909.

[9]) E. Müller, Über das Verhalten des proteolytischen Leukocytenfermentes und seines „Antifermentes" in den normalen und krankhaften Ausscheidungen des menschlichen Körpers. Arch. f. klin. Med. 91, 291, 1907.

hängig ist. Eitrige Exsudate, die reich an solchen sind, zeigen eine starke Proteolyse. In tuberkulösen Exsudaten dagegen, die in der Hauptsache Lymphocyten enthalten, sind keine proteolytischen Fermente nachzuweisen, ebensowenig in zellarmen Transsudaten.

In carcinomatösen Exsudaten wurde hinwiederum das Vorhandensein von proteolytischen Fermenten festgestellt. Umber[1]) fand in Ascitesflüssigkeiten, die unter dem Einfluß von malignen Ovarialtumoren entstanden waren, alle Anzeichen einer lebhaften Autolyse. Er konnte eine Vermehrung des nicht koagulablen Stickstoffes, sowie des Ammoniakgehaltes feststellen und aus den Flüssigkeiten Albumosen, Leucin und Tyrosin isolieren. Ebenso fand Eppinger[2]) in einem Falle von carcinomatöser Peritonitis eine lebhafte Autolyse, während er eine solche bei tuberkulösen Exsudaten und bei Transsudaten nicht nachweisen konnte.

Im Gegensatz dazu steht ein Befund von Müller (l. c. 13), der in einem carcinomatösen Exsudat mittels seiner Serumplattenmethode kein Ferment nachweisen konnte.

Die Erklärung für diesen Widerspruch geben die folgenden Versuche, die ich auf Anregung von Herrn Prof. Dr. A. Schittenhelm durchgeführt habe.

Wir fanden in einem sehr blutreichen carcinomatösen Exsudat, in dem keine Autolyse nachgewiesen werden konnte, daß wohl ein ereptisches, aber kein tryptisches Ferment vorhanden war. Wir sehen den Grund dafür in dem Antifermentgehalt des Blutes und des Exsudates, durch den die tryptische Komponente verdeckt wird, während das ereptische Ferment dadurch nicht behindert wird. Die Flüssigkeit spaltete Glycylglycin und Leucylglycin ziemlich stark, während Casein und Eiereiweiß nicht angegriffen wurden.

In einem tuberkulösen Exsudat konnte mittels Seidenpepton kein proteolytisches Ferment nachgewiesen werden, ebensowenig in zwei Stauungstranssudaten mittels Seidenpepton und Glycylglycin.

---

[1]) Fr. Umber, Über Autolyse in Punktionsflüssigkeiten. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 28; Zum Studium der Eiweißkörper in Exsudaten. Zeitschr. f. klin. Med. 48, 364, 1902.

[2]) H. Eppinger, Über Autolyse in Punktionsflüssigkeiten. Zeitschr. f. Heilk. 25, 378, 1904.

Bei der geringen Zahl der bis jetzt von uns untersuchten Fälle läßt sich noch kein abschließendes Urteil über die Frage des Vorkommens von proteolytischen Fermenten in Exsudaten geben. Die erhaltenen Resultate geben aber den Weg für weitere Versuche.

Die Spaltung von Glycylglycin wurde folgendermaßen nachgewiesen: Je 25 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit wurden mit je 1 g Glycylglycin 8 Tage unter Toluolzusatz im Brutschrank stehen gelassen, dann wurden die Flüssigkeiten 8 Tage lang unter häufigem Wasserwechsel dialysiert. Die Dialysate wurden im Vakuum eingedampft. Die Probe, die Glyylglycin enthielt, wurde durch 2 maliges Abdampfen im Vakuum mit absolutem Alkohol vom Wasser befreit und 2 mal durch Zusatz von absolutem Alkohol und Einleiten von gasförmiger Salzsäure unter Kühlung verestert. Nachdem in einer äquivalenten Menge der Chlorgehalt bestimmt worden war, wurde der Ester mit der berechneten Menge Natriumäthylat in Freiheit gesetzt und im Vakuum in eine Vorlage überdestilliert, die mit einer Kältemischung gekühlt war. Die in der Vorlage befindliche alkoholische Lösung des Esters wurde durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in das Hydrochlorat übergeführt und im Vakuum zur Trockne verdampft, der Rückstand mit wenig absolutem Alkohol aufgenommen, die Lösung in einem Kölbchen mit gasförmiger HCl gesättigt und in den Eisschrank gestellt. Nach 24 stündigem Stehen wurden die ausgeschiedenen Krystalle abgesaugt.

Bei dem Versuch, der mit dem carcinomatösem Exsudat angesetzt wurde, schieden sich Krystalle aus, die die für Glykokollesterchlorhydrat typische Krystallform zeigten. Diese wogen 0,85 g. Nach Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol ergab sich ein Schmelzpunkt von 145°. — Aus zwei Stauungstranssudaten, die mit Glycylglycin angesetzt wurden, konnte kein Glykokollesterchlorhydrat isoliert werden.

Mit Leucylglycin wurde nur das carcinomatöse Exsudat angesetzt, und zwar 25 von Exsudat mit 1 g Leucylglycin. Die Flüssigkeit wurde zur Trockne verdampft und mit sehr wenig kaltem Wasser aufgenommen, vom ungelösten abfiltriert, im Vakuum zur Trockne verdampft, 2 mal mit absolutem Alkohol abgedampft und durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in

die alkoholische Flüssigkeit verestert. Nachdem der Alkohol im Vakuum abgedampft war, wurde mit wenig absolutem Alkohol aufgenommen, mit gasförmiger Salzsäure gesättigt und zur Krystallisation 24 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Die Menge der ausgeschiedenen nadelförmigen Krystalle betrug 0,1 g. Nach Umkrystallisieren aus absolutem Alkohol ergab sich ein Schmelzpunkt von 142°. Es lag also Glykokollesterchlorhydrat vor.

Ein anderer Teil dieser Arbeit war der Isolierung von Aminosäuren aus Exsudaten gewidmet. Umber (l. c. 14) hatte bereits Leucin und Tyrosin in Exsudaten nachgewiesen. Auch wir konnten diese Körper finden und außerdem noch Histidin und Arginin. Daß noch andere Aminosäuren vorhanden waren, ist anzunehmen, sie zu identifizieren war infolge der geringen Menge unmöglich. Zur Verarbeitung gelangte das obenerwähnte carcinomatöse Exsudat und außerdem eine Ascitesflüssigkeit, die durch Punktion eines an pseudoperikarditischer Lebercirrhose leidenden Mannes gewonnen worden war.

Zur Befreiung von Eiweißkörpern wurde die von Kutscher[1]) angegebene Tanninmethode benutzt. Dann wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt und diese Fällung nach der Vorschrift von Steudel[2]) weiter verarbeitet.

Aus dem carcinomatösen Exsudat gelang die Isolierung der Pikrolonate des Histidins und Arginins, während aus der Ascitesflüssigkeit Körper gewonnen wurden, die einen etwas zu niedrigen Schmelzpunkt hatten, also nicht mit Sicherheit als Histidin- und Argininpikrolonat angesprochen werden konten. Lysin konnte in keinem Falle isoliert werden. Im Filtrat von der Phosphorwolframsäure gelang die Isolierung von Aminosäuren infolge des ziemlich großen Gehaltes an anorganischen Salzen zunächst nicht. Deshalb wurden die Ester der Aminosäuren hergestellt und von den alkoholunlöslichen Salzen abfiltriert. Nur die Kalksalze gingen in Lösung. Nach-

---

[1]) Kutscher, Centralbl. f. Physiol. Nr. 15.

[2]) H. Steudel, Isolierung von Histidin, Arginin, Lysin. Handb. d. bioch. Arbeitsmethoden 2, 498.

dem die Aminosäuren wieder in Freiheit gesetzt waren, wurde ihre Isolierung versucht. Aus dem carcinomatösen Exsudat konnte Leucinkupfer in typischen, blaßblauen Krystallen gewonnen werden, während die Isolierung von Tyrosin nicht gelang, obwohl starke Millonsche Reaktion vorhanden war. Wahrscheinlich war der ziemlich starke Kalkgehalt der Lösung daran schuld. Glykokoll und Glutaminsäure waren nicht vorhanden.

Aus der Ascitesflüssigkeit wurde Tyrosin in typischen, ährenförmigen Krystallen isoliert. Dagegen konnte kein Leucin gewonnen werden. Im Filtrat vom Tyrosin wurde eine ganz geringe Menge eines alkohollöslichen Kupfersalzes dargestellt (Prolinkupfer?).

Von dem carcinomatösen Exsudat gelangten 3½ l zur Verarbeitung. 2½ l wurden frisch verarbeitet, 1 l mit Toluol in den Brutschrank gestellt. Die Bestimmung des Gesamtstickstoffes im frischen Exsudat ergab 1,19%, diejenige des nicht koagulablen Stickstoffes 0,086%.

2½ l wurden mit 20%iger Gerbsäurelösung im Überschuß gefällt, von dem massenhaften Niederschlag abfiltriert und dieser mit kaltem Wasser gut ausgewaschen. Aus dem Filtrat wurde das Tannin durch Baryt entfernt. Da der Niederschlag durchs Filter ging, wurde zuerst die Hauptmenge durch Filtration entfernt, worauf durch Absitzenlassen eine einigermaßen klare Flüssigkeit erzielt werden konnte. Nach Ausfällung des überschüssigen Baryts mit Schwefelsäure wurde das Filtrat vom Bariumsulfat so lange mit einem großen Überschuß von Bleioxyd stehen gelassen, bis mit Bleiacetat nur noch eine ganz geringfügige Trübung hervorgebracht werden konnte. Das Filtrat wurde mit H_2S entbleit und unter vermindertem Druck auf 1070 ccm eingedampft. Eine Stickstoffbestimmung ergab 1,958 g N. Die Lösung wurde dann auf 5% Schwefelsäure gebracht und konzentrierte Phosphorwolframsäure so lange zugesetzt, bis erst nach einiger Zeit eine Fällung auftrat. Nach 24stündigem Stehen wurde der Niederschlag scharf abgesaugt und mit 25%iger Schwefelsäure gut ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Baryt quantitativ von der Schwefelsäure befreit und im Vakuum auf ein kleines Volum gebracht. Die Flüssigkeit gab deutliche Millonsche Reaktion. Infolge eines Unfalles mußte die Weiterverarbeitung unterbleiben.

1 l desselben Exsudates blieb 11 Wochen im Brutschrank stehen und wurde dann analog verarbeitet. Der Stickstoffgehalt vor der Phosphorwolframsäurefällung war 0,58%. Die Flüssigkeit hatte eine dunkelbraune Farbe angenommen und am Boden des Gefäßes hatte sich ein voluminöser Eiweißniederschlag abgesetzt, von dem abfiltriert wurde; darin liegt die Ursache für die Verminderung der Stickstoffmenge.

Die beiden Phosphorwolframsäurefällungen wurden zusammen verarbeitet. Sie wurden mit überschüssigem Baryt versetzt, vom Bariumphosphorwolframat abfiltriert und der Niederschlag ausgekocht. Die Flüssigkeit wurde dann mit überschüssiger Schwefelsäure versetzt, vom Bariumsulfat abfiltriert, dieses ausgekocht und Filtrat und Waschwässer im Vakuum auf 1 l eingeengt. Eine Stickstoffbestimmung ergab 0,845 g N. Die Flüssigkeit wurde nun genau nach der Vorschrift von Steudel (l. c. 17) verarbeitet.

Die Histidinfraktion enthielt 0,031 g N. Die Diazoreaktion war stark positiv. Nachdem die Flüssigkeit auf ca. 10 ccm eingeengt war, wurde etwas mehr als die berechnete Menge Pikrolonsäure in wenig Alkohol gelöst, zu der Flüssigkeit hinzugefügt und 3 Tage stehen gelassen. Die ausgeschiedenen Krystalle wurden abgesaugt und bei 100° getrocknet. Sie wogen 0,1 g. Da sich aus dem Pikrolonat 0,0307 g berechnen lassen, rührte der ganze Stickstoff dieser Fraktion von Histidin her. Nachdem die Substanz aus wenig heißem Wasser umkrystallisiert war, ergab sich ein Schmelzpunkt von 223°.

Der Stickstoffgehalt der Argininfraktion betrug 0,012 g. Aus der Flüssigkeit, die starke Diazoreaktion gab, wurde 0,05 g eines aus gelben Nadeln bestehenden Pikrolonates erhalten. Nach Umkrystallisieren aus wenig heißem Wasser ergab sich ein Schmelzpunkt von 228°.

Lysin konnte nicht erhalten werden.

Das Filtrat von der Phosphorwolframsäure wurde mit überschüssigem Baryt von der Phosphorwolframsäure befreit und der Baryt quantitativ mit Schwefelsäure entfernt. Das Filtrat vom Bariumsulfat wurde im Vakuum stark eingeengt und zur Krystallisation stehen gelassen. Es schieden sich aber nur anorganische Salze aus. Deshalb wurde die Flüssigkeit im Vakuum vollständig zur Trockne verdampft und dann mit absolutem Alkohol abgedampft, hierauf 2mal durch Einleiten von trockenem Salzsäuregas in die alkoholische Flüssigkeit verestert und die ausgeschiedenen anorganischen Salze abgenutscht. Das dunkelbraune Filtrat wurde dann mit 400 ccm Wasser versetzt und zur Verseifung der Ester 8 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Hierauf wurde die Flüssigkeit mit Tierkohle entfärbt und stark eingeengt. Beim Stehen in der Kälte schieden sich 0,48 g einer Substanz aus, die auf dem Platinblech restlos verbrannte, unter dem Mikroskop stechapfelförmige Krystalle zeigte und keine Millonsche Reaktion gab. Durch Kochen mit frischgefülltem Kupferoxyd wurde die Substanz in ihr Kupfersalz verwandelt. Durch fraktionierte Krystallisation konnten 0,05 g des typischen, blaßblauen Leucinkupfers isoliert werden. Die weiteren Fraktionen zeigten dunkelblaue Farbe. Ihre Menge reichte jedoch zu einer Identifizierung nicht aus. Durch Einleiten von Schwefelwasserstoff wurde das Kupfer ausgefällt und das Filtrat vom Kupfersulfid auf ein kleines Volumen gebracht. Durch Einleiten von Salzsäuregas konnte keine Ausscheidung von Glutaminsäurechlorhydrat erzielt werden. Die Flüssigkeit wurde dann im Vakuum zur Trockne eingedampft, durch Abdampfen mit absolutem Alkohol die letzten Spuren

Wasser entfernt, 2mal verestert und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit wenig absolutem Alkohol aufgenommen, mit Salzsäuregas gesättigt und mit einem Kryställchen Glykokollesterchlorhydrat geimpft. Es erfolgte keine Ausscheidung von Glykokollesterchlorhydrat. Das Filtrat von der 1. Krystallisation zeigte deutliche Millonsche Reaktion. Es wurde versucht, durch fraktionierte Krystallisation Tyrosin zu isolieren. Es gelang dies aber infolge der Anwesenheit verhältnismäßig großer Mengen von Kalksalzen nicht. Auch Glykokollesterchlorhydrat wurde nicht gefunden.

Da auf diesem Wege nichts zu erreichen war, wurde versucht, eine Naphthalinsulfoverbindung zu erhalten. Zu diesem Zwecke wurden alle Fraktionen vereinigt, in 200 ccm Wasser gelöst, neutralisiert und 10 ccm $^{n}/_{1}$-Natronlauge zugegeben. Nachdem eine ätherische Lösung von 5 g β-Naphthalinsulfochlorid zugefügt worden war, wurde 8 Stunden in der Schüttelmaschine bei alkalischer Reaktion geschüttelt. Das Gemisch wurde dann in einen Scheidetrichter gegossen, bei alkalischer Reaktion von der Ätherschicht abgetrennt und nochmals mit Äther durchgeschüttelt. Dann wurde mit konzentrierter Salzsäure stark angesäuert und das sich abscheidende Öl ausgeäthert. Nachdem die ätherische Lösung mit Natriumsulfat getrocknet war, wurde der Äther abdestilliert. Zurück blieb eine geringe Menge eines braunen Öles, das in wenig Alkohol gelöst und in ca. 20 ccm Wasser gegossen wurde. Es schied sich ein braunes Öl ab, das nach 14 Tagen noch keine Neigung zum Krystallisieren zeigte. Es wurde daher nochmals in Alkohol gelöst, mit wenig Tierkohle gekocht und in Wasser gegossen. Das sich jetzt ausscheidende Öl war zwar farblos, krystallierte aber auch nicht. Es gelang also nicht, weitere Aminosäuren zu isolieren, obwohl solche sicher noch vorhanden waren.

Analog wurden 7 l einer durch Punktion eines an Lebercirrhose leidenden Mannes gewonnenen Ascitesflüssigkeit verarbeitet. Diese war eine milchig aussehende Flüssigkeit, aus der sich am Boden wenige Flocken abgesetzt hatten. Nachdem sie ca. 3 Monate im Brutschrank gestanden hatte, wurde sie in Arbeit genommen. Der Stickstoffgehalt betrug 0,62 °/₀, also 45,33 g N. Filtrat N 0,02 °/₀. Nach der Entfernung des Tannineiweißes, des Bariumtannats, des Bleiniederschlags und des Bleisulfids wurde die Flüssigkeit auf 500 ccm gebracht. Eine Stickstoffbestimmung ergab 1,365 g N. Der Phosphorwolframsäureniederschlag enthielt 0,165 g N.

Der Stickstoffgehalt der Histidinfraktion war 0,0133 g. Erhalten wurden 0,06 g eines Pikronolats, das sehr schwer trocknete. Smp: 212°.

Die Argininfraktion enthielt 0,014 g N. Erhalten wurden 0,09 g eines Pikrolonats, das nach dem Umkrystallisieren bei 205° schmolz. Reines Argininpikrolonat lag also nicht vor. Lysin konnte auch hier nicht nachgewiesen werden.

Aus dem Filtrat von PWS-Niederschlag wurden 0,29 g einer bräunlich aussehenden Substanz erhalten, die starke Millonsche Reaktion

gab. Die Substanz wurde in Wasser gelöst, mit frisch gefälltem Kupferoxyd gekocht und vom ungelösten abfiltriert. Das Filtrat zeigte eine schmutzige, grünblaue Farbe. In diese Lösung wurde Schwefelwasserstoff eingeleitet und dann vom ausgeschiedenen Kupfersulfid abfiltriert. Es resultierte eine farblose, klare Flüssigkeit, aus der sich beim Einengen 0,02 g einer Substanz ausschieden, die starke Millonsche Reaktion gab und unter dem Mikroskop schön ausgebildete, ährenförmige Krystalle erkennen ließ. Eine 2. Fraktion ergab 0,05 g einer Substanz, die sich ebenso verhielt wie die vorige. Das Filtrat gab Millonsche Reaktion. Die Körper, die darin noch vorhanden waren, wurden in ihr Kupfersalz verwandelt. Beim Einengen konnte kein Leucinkupfer erhalten werden, wohl aber geringe Mengen eines in abs. Alkohol löslichen Kupfersalzes, so daß möglicherweise Prolin in Spuren vorhanden war.

Aus dem Filtrat von dieser Substanz wurden noch geringe Mengen eines β-Naphthalinsulfoproduktes erhalten, das aber keine Neigung zur Krystallisation zeigte.

Zur Lecithinhämolyse.

Von

J. C. Schippers.

(Aus dem pathologischen Laboratorium der Universität von Amsterdam.)

(Eingegangen am 4. April 1912.)

Bekanntlich konnten mehrere Autoren nachweisen, daß die hämolytischen Eigenschaften des Lecithins von den durch seine Zersetzung entstehenden Beimischungen gesättigter und ungesättigter höherer Fettsäuren herrühren. Bang[1]) vermutet, daß reines Lecithin nicht hämolytisch wirkt. Ohne auf die diesbezügliche Literatur einzugehen, möchte ich kurz die Aufmerksamkeit auf einige Beobachtungen lenken, welche ich gemacht habe bei Hämolyseversuchen mit verschiedenen Lecithinemulsionen, die ich zu einem anderen Zwecke angestellt hatte.

Die Emulsionen von verschiedenen Lecithinpräparaten, welche nach der Methode von Porges und Neubauer[2]) hergestellt waren, wurden in absteigenden Konzentrationen mit einer zweimal gewaschenen Blutkörperchensuspension (1:5) vom Schaf gemischt, und zwar kam je 0,1 ccm Blutkörperchensuspension zu je 4 ccm der Emulsionen, und alsdann wurde während 1 Stunde auf 37,5° im Thermostat erwärmt. Die Konzentrationen der Emulsionen wurden nach der Herstellung durch Trockenrestbestimmung ermittelt[3]) und sind in untenstehender Tabelle in Milligramm Lecithin pro 100 ccm der Emulsion ausgedrückt, während die fett gedruckten Zahlen die Hämolyse anzeigen.

Name des Präparates	Konzentrationen					
Lecithin Riedel	380	190	95	47		
„ Agfa	**445**	**222**	**111**	**55**	**22**	**11**
„ Onderl. Pharm. Groothandel .	**440**	**220**	**110**	**55**	**22**	**11**
„ eigenes Präparat Nr. 2	**375**	**187**	**93**	**46**	**23**	**11**

---

[1]) Ergebnisse der Physiologie (Asher-Spiro) **6**, Abt. I u. II, 1907.

[2]) Diese Zeitschr. **7**, 152, 1907.

[3]) Diese Zeitschr. **40**, 189, 1912.

In der nächsten Tabelle stehen die Resultate verzeichnet, welche mit den nach meiner eigenen Methode[1]) hergestellten Emulsionen erhalten sind. Die Versuchsanordnung war wie oben.

Name des Präparates	Konzentrationen							
Lecithin Riedel	442	221	110	82	55	41	20	10
„ Agfa	**404**	**202**	**101**	**90**	**50**	45	22	11
„ Onderl. Pharm. Groothandel .	—	248	124	62	54	—	27	13
„ eigenes Präparat Nr. 2	**311**	**160**	—	**80**	—	**40**	35	17

Aus vorstehenden Tabellen ist an erster Stelle ersichtlich, daß die verschiedenen Lecithine nicht gleich hämolytisch sind, und zweitens, daß die Methode der Darstellung ihrer Emulsionen von großem Einfluß ist. Wie man im voraus erwarten konnte, zeigte meine Methode sich schonender als z. B. jene von Porges und Neubauer. Die verschiedenen Emulsionen, welche in braunen, gut verschlossenen Flaschen im Dunkeln an kühlem Ort aufbewahrt wurden, veränderten ihre hämolytischen Eigenschaften, wenigstens während der ersten 4 Wochen, nicht.

Ich erhielt dieselben Resultate mit nicht gewaschenen Blutkörperchen vom Schaf sowie mit gewaschenen Blutkörperchensuspensionen vom Menschen und Kaninchen.

Bei den Versuchen mit Konzentrationen über $\pm$ 100 mg Lecithin pro 100 ccm Emulsion hat man die Unannehmlichkeit, daß das Lecithin ausfällt, während der Blutfarbstoff in einer anderen Modifikation übertritt (gelb bis braune Verfärbung); mikroskopisch findet man keine Blutkörperchen im Präcipitat.

Wenn man die Hämolyse mikroskopisch verfolgt, sieht man, wie die Blutkörperchen inmitten der Lecithinteilchen nach einiger Zeit etwas anschwellen, sodann plötzlich ihren Farbstoff verlieren und allmählich verschwinden, gerade so wie man das bei hypotonischen Salzlösungen oder destilliertem Wasser sehen kann. Unter dem Ultramikroskop zeigen sich meine Emulsionen schön homogen mit deutlicher Braunscher Molekularbewegung ihrer Teilchen.

Man muß also bei Hämolyseversuchen mit Lecithinemulsionen Rücksicht nehmen auf die Wahl des Präparates sowie der Methode ihrer Herstellung.

[1]) Diese Zeitschr. **40**, 189, 1912.

Über den Einfluß des Peptons auf die Zuckerbestimmung durch Fehlingsche Lösung[1]).

Von

Alessandro Bernardi.

(Aus dem Institut für pharmazeutische und toxikologische Chemie der Universität Bologna.)

(Eingegangen am 6. April 1912.)

Auf Anraten des Herrn Prof. E. Salkowski, in dessen Laboratorium ich im Sommersemester 1911 einige Zeit arbeitete, habe ich den Einfluß studiert, welchen das Pepton auf die gewichtsanalytische quantitative Bestimmung der Glucose mit Fehlingscher Lösung ausübt. Es sollte dies eine Vorarbeit sein für eine andere Arbeit, bei welcher sich die Notwendigkeit ergab, die Quantität von Glucose bei Gegenwart von Pepton festzustellen.

Die angewendete Traubenzuckerlösung war ungefähr 1%ig, ebenso die Peptonlösung[2]). Von beiden wurden 25 ccm ge-

---

[1]) Diese Arbeit war schon zu Ende geführt, als ich von einer im Chem. Centralbl. 1912, Bd. I, Nr. 5, S. 378 referierten Arbeit von Neuberg und Ishida: „Über die Bestimmung des Traubenzuckers in Naturstoffen" Kenntnis erhielt. Ich glaube, daß meine Arbeit trotzdem nicht ohne Interesse sein wird, und habe sie deshalb nicht zurückgehalten. Ich bemerke noch, daß die Publikation sich aus äußeren Gründen verzögert hat.

[2]) Pepton Witte.

nommen und mit 80 ccm Fehlingscher Lösung 3 Minuten im Sieden erhalten, das ausgeschiedene Kupferoxydul auf einem getrockneten, gewogenen Filter gesammelt, ausgewaschen und bei 115° getrocknet. Natürlich wurde zum Versuch und Gegenversuch immer dieselbe Traubenzuckerlösung genommen, für jeden einzelnen Versuch frisch hergestellt.

Die peptonhaltige Mischung lieferte also jedesmal ein nicht unbeträchtliches Plus an Cu_2O.

Tabelle I.

Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung	Aus der Mischung mit 0,25 g Pepton
1	0,5402	{0,5691 0,5700
2	0,5532	0,577
3	0,5067	{0,5314 0,5348
4	0,5163	{0,5300 0,5288

Es fragte sich nun, ob das Plus mit der Quantität des zugesetzten Peptons wächst.

Tabelle II.

Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung	Aus der Zuckerlösg. + 0,25 Pepton	Aus der Zuckerlösg. + 0,5 Pepton
5	{0,5402 0,5364	0,5691 0,5700	0,6116 0,6070
6	{0,5164 0,5163	0,5300 0,5288	0,566 0,574
7	{0,5188 0,5180	0,5406 0,5408	0,5796 0,5742

Hierzu ist folgendes zu bemerken: Das Abfiltrieren und Auswaschen des Kupferoxyduls aus den peptonhaltigen Mischungen ist in jedem Falle schwierig: es geht sehr leicht durch das Filter hindurch. Diese Schwierigkeit ist um so größer, je größer der Peptongehalt. Durch einen Zusatz von Salzen wird das

Abfiltrieren und Auswaschen erleichtert; dieses Verfahren wurde daher angewendet. In Nr. 5 ist Chlornatrium, in Nr. 6 und 7 Natriumacetat angewendet. In den beiden letzteren Versuchen konnte das Salz vollständig durch Alkohol fortgewaschen werden, in Nr. 5 war das bei der Unlöslichkeit des Chlornatriums nicht möglich, diese Bestimmungen sind daher wohl zu hoch. Jedenfalls aber wächst das Plus mit der Quantität des Peptons.

Es war nun von Interesse zu sehen, ob der störende Einfluß des Peptons sich nur bei der Reduktion der Fehlingschen Lösung durch Glucose geltend macht, oder ob andere reduzierende Substanzen ebenso beeinflußt werden. Als Reduktionsmittel wählte ich verdünnte Lösungen von Hydroxylaminchlorhydrat. Dabei ergab sich:

Tabelle III.

Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus Hydroxylamin	Aus Hydroxylamin + 0,25 Pepton
9.	0,305	{0,3395 0,3368
10.	0,6620	0,6984

Da nun Pepton mit Fehlingscher Lösung an sich keine Reduktion gibt, wenigstens nicht bei kurzdauerndem Kochen, dachte ich daran, daß das Plus vielleicht auf einer Bildung von Kupfersulfid beruhen könnte, um so mehr, als das Kupfer oxydul bei Gegenwart von Pepton nicht so schön rot aussieht wie aus Zuckerlösung allein, sondern mehr bräunlich. Allein auch bei langem Kochen von Peptonlösung mit Fehlingscher Lösung ist keine Bildung von Kupfersulfid zu bemerken. Nach wochenlangem Stehen derartiger gekochter Lösungen bemerkte ich die Ausscheidung einer schwärzlichen Substanz, die in kaltem Wasser mit violetter Farbe löslich ist, etwas auch in Alkohol. Dieselbe soll noch näher untersucht werden.

Weiterhin wurde versucht, ob das fehlerhafte Plus auch dann vorhanden ist, wenn man das Kupfer als Kupferrhodanür (Cuprorhodanid) bestimmt, und zwar einerseits mit Traubenzucker, anderseits mit Hydroxylamin.

Tabelle IV.

Nummer des Versuchs	1.	2. Cu_2O	3. Cu_2O im Mittel	4. $Cu_2(CNS)_2$ aus Cu_2O	5. Dem $Cu_2(CNS)_2$ entsprechendes Cu_2O	6. Mittel	7. Differenz zwischen beiden Arten der Bestimmung
11	Glucoselösung	0,4738 0,4742	0,4700	0,7636 0,7616	0,4492 0,4480	0,4486	− 0,0254
11	Glucose + Pepton	0,4998 0,4927	0,4962	0,7608	0,4476	—	− 0,0468
12	Glucose	0,5161	—	—	—	—	—
12	Glucose + Pepton	—	—	0,8397	0,494	—	− 0,0221

Tabelle V.

Nummer des Versuchs	1.	2. Cu_2O	3. Cu_2O im Mittel	4. $Cu_2(CNS)_2$ aus Cu_2O	5. Dem $Cu_2(CNS)_2$ entsprechendes Cu_2O	6. Mittel	7. Differenz zwischen den betreffenden Bestimmungen
13	Lösung von Hydroxylaminchlorhydrat	0,6747 0,6718	0,6733	—	—	—	—
13	Hydroxylamin + Pepton	—	—	1,1388 1,1398	0,6699 0,6709	0,6704	− 0,0029
14	Hydroxylamin	0,6334	—	1,0666	0,6281	—	− 0,0053
14	Hydroxylamin + Pepton	0,6717	—	1,0610	0,6242	—	− 0,0475

Es ergibt sich hieraus, daß, wenn man das Kupferoxydul in Kupferrhodanür überführt, die Zuckerbestimmung bei Gegenwart von Pepton nicht zu hoch ausfällt, sondern im Gegenteil etwas zu niedrig. Bei den Hydroxylaminlösungen ist die Differenz zwischen der Bestimmung mit und ohne Pepton so gering, daß sie als innerhalb der Versuchsfehler liegend angesehen werden kann.

Bequemer und genauer ist es, wenn man die mit Salzsäure angesäuerte Glucoselösung mit Phosphorwolframsäure ausfällt. Man kann nach 1stündigem Stehen abfiltrieren. Die nachfolgende Tabelle enthält die auf diesem Wege erhaltenen Resultate.

Tabelle VI.
Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung	Aus derselb. Zuckerlösg. + 0,25 Pepton	Aus derselb. Zuckerlösg. + 0,5 Pepton
15	0,5532	0,5498[1])	—
16	0,5190	0,5216	0,520
17	0,5163	0,5120	0,5104

Aus meinen Versuchen geht also hervor, daß die Bestimmung des Traubenzuckers (und des Hydroxylamins) durch Reduktion bei Gegenwart von Pepton zu hohe Werte liefert, dagegen nicht, wenn man das Kupferoxydul nachträglich in Kupferrhodanür überführt, ferner, wenn man vor der Bestimmung das Pepton durch Phosphorwolframsäure ausfällt, selbst in dem Falle, daß das Pepton in doppelter Menge vorhanden ist gegenüber dem Traubenzucker.

---

[1]) Ohne vorgängige Fällung mit Phosphorwolframsäure wurden erhalten 0,5770 Cu_2O.

Beiträge zur allgemeinen Eiweißchemie. IV.

Experimentelle Beiträge zur Eiweißspaltung und Beobachtungen über Seife-Eiweiß-Verbindungen.

Von

Peter Rona und **Leonor Michaelis.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 8. April 1912.)

Die Änderung der Oberflächenspannung, die bei der Spaltung gewisser stark oberflächenaktiver Ester in der wässerigen Lösung derselben eintritt, kann — wie in einer früheren Mitteilung gezeigt wurde — bequem zum Verfolgen einer fermentativen oder sonstigen Hydrolyse dieser Körper verwertet werden.

Es war nun naheliegend, diese Eigenschaft auch beim Studium der Eiweißspaltung zunutze zu machen, da, wie wir durch Untersuchungen von J. Traube wissen, die genuinen Eiweißkörper in wässeriger Lösung die Oberflächenspannung nicht bzw. kaum erniedrigen, während die höheren Spaltprodukte, die Peptone, zu den stark oberflächenaktiven Körpern gehören. Da das Verfolgen der Änderung der Oberflächenspannungserniedrigung durch Zählen der Tropfenzahl während des Ausfließens einer bestimmten Menge der Lösung aus einer Capillare äußerst einfach ist, hätten wir auf diese Weise eine bequeme Methode gewonnen zur Feststellung einer stattgehabten Proteolyse. Die in dieser Richtung angestellten Versuche führten jedoch zu dem unerwarteten Resultat, daß nur bei der Säurespaltung der betreffenden Eiweißkörper eine Steigerung der Oberflächenspannungserniedrigung eintritt, während die peptische und die tryptische Verdauung zu keiner oder nur

ganz geringer Änderung bezüglich der Oberflächenspannung des Systems führt.

Sehr schön kann man die Verhältnisse bei der Verdauung des Fibrins studieren. Obgleich bei kurzdauerndem Kochen von Fibrinflocken mit Salzsäure (zu ca. 5 %) eine kaum sichtbare Auflösung erfolgt und die Lösung nur eine ganz schwache Biuretreaktion zeigt, ist die Tropfenzahl der abfiltrierten Flüssigkeit gegen den ursprünglichen Wert ganz bedeutend in die Höhe gegangen, während bei den entsprechenden Pepsin- und Trypsinversuchen, bei welchen schon der bloße Augenschein bereits nach kurzer Zeit einen sehr weitgehenden Zerfall des Flockens feststellen kann, die Tropfenzahl sich nicht ändert. Prinzipiell die gleichen Verhältnisse waren auch bei anderen untersuchten Eiweißarten zu konstatieren, so bei Blutalbumin, bei Ovalbumin, Casein, Edestin, Gliadin; nur Gelatine verhielt sich insofern anders, als da auch nach der Säurespaltung keine Zunahme der Oberflächenspannungserniedrigung nachzuweisen war. Es wurden bei jeder Eiweißart wie auch bei jeder Spaltungsart eine ganze Reihe von Versuchen angestellt; doch verhielten sich diese so gleichartig, daß wir in den folgenden nur wenige Beispiele, die den Verlauf des Versuches illustrieren sollen, angeführt haben. Die Bestimmung der Tropfenzahl erfolgte stets an dem von den ungelösten Eiweißteilchen getrennten Filtrat bei 18°. Der Fortschritt der Spaltung wurde in allen Fällen durch Anstellen der Biuretreaktion, Kochprobe usw. kontrolliert.

1. Fibrin (Merck). a) Säurehydrolyse. 0,3 g Blutfibrin in 40 ccm Wasser wird mit 10 ccm 25 %iger Salzsäure versetzt. Tropfenzahl (TZ.) gleich 103, im Wasserbad gekocht nach 16 Minuten 117, nach weiteren 21 Minuten 124. — b) Pepsinverdauung. 0,3 g Blutfibrin in 30 ccm Wasser, dazu 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. sofort 98, nach $3^1/_2$ Stunden im Brutschrank 107, nach 23 Stunden (bei Zimmertemperatur) 105. — c) Trypsinverdauung. 0,3 g Blutfibrin in 30 ccm Wasser + 20 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. gleich 99, nach 3 Stunden im Brutschrank 100, nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur 98.

2. Fibrin (feucht). a) Säurehydrolyse. Fibrinflocken in 25 ccm Wasser + 5 ccm 25 %ige Salzsäure. TZ. gleich 100, im Wasserbade gekocht nach 20 Minuten 120, nach weiteren

20 Minuten 127; im Brutschrank nach 17 Stunden 132. — b) Pepsinverdauung. Fibrinflocken in 20 ccm Wasser + 10 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und Salzsäure bis Kongobläue. TZ. gleich 99, im Brutschrank nach 17 Stunden 101. — c) Trypsinverdauung. Fibrinflocken in 20 ccm Wasser + 10 ccm Trypsinlösung (Filtrat von 5 g Pankreatin Rhenania in 100 ccm Wasser) TZ. gleich 99, nach 2 Stunden im Brutschrank 98, nach 17 Stunden im Brutschrank 99.

3. Ovalbumin (Merck) 0,5 %ige Lösung. a) Säurehydrolyse. 30 ccm Ovalbuminlösung + 10 ccm Wasser + 10 ccm 25 %ige HCl. TZ. gleich 100, im Wasserbad gekocht nach 19 Minuten 114, nach weiteren 20 Minuten 122, nach 17 Stunden im Brutschrank 120. — b) Pepsinverdauung. 30 ccm Ovalbuminlösung + 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und Salzsäure bis zu Kongobläue. TZ. sofort 106, nach $3\frac{1}{2}$ Stunden im Brutschrank 107, nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur 103. — c) Trypsinverdauung. 30 ccm Ovalbuminlösung + 20 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. sofort 99, nach 2 Stunden im Brutschrank 100, nach 17 Stunden bei Zimmertemperatur 98.

4. Blutalbumin (Merck) 0,5 %ige Lösung. a) Säurehydrolyse. 30 ccm Lösung + 10 ccm Wasser + 10 ccm 25 %ige HCl. TZ. gleich 106, im Wasserbad gekocht nach 20 Minuten 120, nach 22 Stunden bei Zimmertemperatur 119. — b) Pepsinverdauung. 30 ccm Lösung + 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. sofort 101, dann 2 Stunden im Brutschrank und 23 Stunden bei Zimmertemperatur 105. — c) Trypsinverdauung. 30 ccm Lösung + 20 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. sofort 100, nach 2 Stunden im Brutschrank 103, nach 22 Stunden bei Zimmertemperatur 102. Zusatz von 10 ccm 25 % HCl und Kochen im Wasserbad; nach 40 Minuten 127.

5. Edestin. 1 g in 100 ccm Wasser aufgeschwemmt. a) Säurehydrolyse. 30 ccm der Aufschwemmung + 10 ccm 25 %ige Salzsäure. TZ. sofort nach Mischung 102; im Wasserbad gekocht nach 20 Minuten 135, nach weiteren 40 Minuten 134. — b) Pepsinhydrolyse. 30 ccm Aufschwemmung + 10 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. sofort 106; nach $2\frac{1}{4}$ Stunden im Brutschrank 102, nach 23 Stunden bei Zimmertemperatur 117. — c) Trypsinlösung.

30 ccm Aufschwemmung + 10 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. sofort 100, nach 2 1/4 Stunden im Brutschrank 104, nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur 104.

6. Casein (Hammarsten). a) Säurespaltung. 0,2 g Casein + 40 ccm Wasser + 20 ccm 25 %ige Salzsäure. TZ. des Filtrates sofort 103; im Wasserbad gekocht nach 20 Minuten 137, nach weiteren 40 Minuten 141. — b) 0,2 g Casein + 40 ccm Wasser + 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. des Filtrates sofort 116; im Brutschrank nach 2 1/4 Stunden 118, nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur 117. — c) Trypsinspaltung. 0,2 g Casein + 40 ccm Wasser und Soda bis zur Lösung + 20 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. sofort 123; nach 2 Stunden im Brutschrank 103, nach 23 Stunden bei Zimmertemperatur 98 (bei Zusatz von HCl bis zur schwachen Rotfärbung gegen Lackmus 108).

7. Gliadin. 0,5 g auf 100 ccm Wasser. a) Säurespaltung. 30 ccm der Aufschwemmung + 10 ccm Wasser + 10 ccm 25 %ige HCl. TZ. sofort 113, nach Kochen im Wasserbad nach 20 Minuten 121, nach 23 Stunden bei Zimmertemperatur 120 — b) Pepsinspaltung. 30 ccm der Aufschwemmung + 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. sofort 105, dann 2 Stunden im Brutschrank und 24 Stunden bei Zimmertemperatur 111. — c) Trypsinverdauung. 30 ccm Aufschwemmung + 20 ccm 1 %ige Trypsinlösung und Soda bis zur Lösung. TZ. gleich 111, im Brutschrank nach 2 Stunden 111, nach 22 Stunden bei Zimmertemperatur 113.

8. Gelatine. 1 g in 150 ccm Wasser gelöst. a) Säurespaltung. 50 ccm der Lösung + 10 ccm 25 %ige HCl. TZ. sofort 104; 30 Minuten im Wasserbad gekocht 105, nach 19 Stunden bei Zimmertemperatur 103. — b) 50 ccm der Lösung + 10 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler). TZ. sofort 102, nach 1 3/4 Stunden im Brutschrank 105, nach 20 Stunden bei Zimmertemperatur 104. — c) Trypsinlösung. 50 ccm der Lösung + 10 ccm 1 %ige Trypsinlösung (Merck). TZ. sofort 102, nach 1 3/4 Stunden im Brutschrank 105, nach 20 Stunden bei Zimmertemperatur 101.

9. Serum (von Kaninchen). a) Säurespaltung. 5 ccm Serum + 40 ccm Wasser + 5 ccm 25 %ige HCl. TZ. sofort 115, 30 Minuten im Wasserbad gekocht 132, 24 Stunden bei Zimmer-

temperatur stehen gelassen 131. — b) Pepsinspaltung. 5 ccm Serum + 20 ccm 1 %ige Pepsinlösung (Grübler) und HCl bis zu Kongobläue. TZ. sofort 118, im Brutschrank nach 1 Stunde 108, nach 24 Stunden bei Zimmertemperatur 108. Die filtrierte Flüssigkeit wird mit 5 % HCl auf dem Wasserbad gekocht. TZ. 116. — c) Trypsinverdauung. 5 ccm Serum + 20 ccm Pankreatinlösung (5 g Pankreas Rhenania in 100 ccm Wasser filtriert) + 25 ccm Wasser. TZ. sofort 104, nach 1 Stunde im Brutschrank 102, nach 24 Stunden 100.

Aus den angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß bei der Säurespaltung der untersuchten Eiweißkörper, die Gelatine ausgenommen, Stoffe entstehen, die die Oberflächenspannung des Wassers bedeutend erniedrigen.

So stieg in wässerigen Aufschwemmungen von Casein, Gliadin, Edestin (1 g zu 100 ccm Wasser) die Tropfenzahl des Filtrats nach einem ca. einstündigen Kochen im Wasserbad mit Salzsäure (zu 5 %) von 100 auf 149, bzw. 141 und 142 („Wasserwert" der Capillare = 100). Es läßt sich auch zeigen, daß diese Zunahme der Oberflächenspannungserniedrigung nicht etwa an die saure Reaktion der Flüssigkeit gebunden ist, denn neutralisiert man diese vorsichtig mit Natronlauge gegen Lackmus, so bleibt (unter Berücksichtigung der notwendigen Verdünnung durch Zufuhr von Lauge) die hohe Tropfenzahl bestehen. Anders liegen die Verhältnisse bei den Fermenthydrolysen. Bei den Versuchen mit Trypsin (angewendet wurde Pankreatin „Rhenania", Trypsin von Merck und von Grübler in 1 %igen Lösungen) wurde selbst in auf mehrere Tage ausgedehnten Versuchen keine Änderung der Tropfenzahl konstatiert. Die bei dieser fermentativen Spaltung entstehenden Spaltprodukte verhalten sich jedoch so, daß sie bei saurer Reaktion die Oberflächenspannung der Flüssigkeit ein wenig erniedrigen. Versetzte man z. B. ein tryptisches Verdauungsgemisch von Casein, das bei der neutralen Reaktion der Lösung die Tropfenzahl 98 gab, mit Salzsäure bis zu gegen Kongorot saurer Reaktion, so stieg die Topfenzahl auf 104. Daher kommt es auch, daß wir bei der HCl-Pepsinwirkung meist eine geringe Erhöhung der Tropfenzahl beobachten können, die aber in keinem Falle die Höhe der bei der Säurespaltung beobachteten erreicht. In einigen Fällen konnte sofort nach der Auflösung des betreffenden

Proteins in Säure oder Lauge eine hohe Tropfenzahl nachgewiesen werden; so zeigt z. B. Gliadin bei teilweiser Lösung in Salzsäure 114, Casein in Lauge gelöst 126 (bei einem Wasserwert der Capillare von 99). In diesen Fällen stieg dann die Tropfenzahl bei der Säurespaltung und sank bei der Fermenthydrolyse. Die von der Salzsäure allein ausgeübte Änderung der Oberflächenspannung ist bei der in Frage kommenden Konzentration an Salzsäure so gering, daß die Tropfenzahl dadurch kaum erhöht wird.

Am ehesten lassen sich die erhobenen Befunde so deuten, daß die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung überhaupt nicht den „Peptonen" zukommt, die doch bei der Fermentspaltung ebenso wie bei der Säurehydrolyse entstehen, sondern einem bei der Säurehydrolyse sich bildenden Nebenprodukt, dessen Natur allerdings erst durch weitere Versuche festgestellt werden muß[1]).

II. In Versuchen, die die Einwirkung des Blutes auf Lecithin zum Studium hatten, sind gewisse Unregelmäßigkeiten beobachtet worden, die dazu führten, die Oberflächenspannung von Systemen: Seife-Blut, Seife-Blutserum, Seife-Blutkörperchen zu untersuchen. Als Stammlösung von Seife wurde eine Auflösung von 1 g oleinsaurem Natrium (Kahlbaum) in 500 ccm Wasser benutzt. Wie bekannt, erniedrigen Seifenlösungen die Oberflächenspannung des Wassers ungemein stark, während Eiweißlösungen und auch Lösungen von Blutserum in den angewandten Konzentrationen kaum eine Wirkung in dieser Richtung ausüben. Nun ergab der Versuch, daß die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung von Seifenlösungen durch Zusatz selbst geringer Mengen von Blut oder Serum bedeutend zurückgedrängt wird. Die folgende Versuchsreihe, die mit dem gleichen Ergebnis oft wiederholt worden ist, möge die Verhältnisse illustrieren.

---

[1]) Der starke Jodoformgeruch nach Anstellen der Jodoformreaktion weist möglicherweise auf einen der Acetongruppe angehörenden Körper.

	Tropfenzahl[1]) bei 18°
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 20 ccm Wasser . .	**267**
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 1 ccm Blut (Hund) + 19 ccm Wasser	171
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 2 ccm Blut (Hund) + 18 ccm Wasser	168
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 0,2 ccm Blut (Hund) + 19,8 ccm Wasser	230
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 0,3 ccm Blut (Hund) + 19,7 ccm Wasser	205
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 2 ccm Serum (Hund) + 18 ccm Wasser	235
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 3 ccm Serum (Hund) + 17 ccm Wasser	200
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 5 ccm 5%ige Blutkörperchen-Aufschwemmung in phys. ClNa-Lösung + 15 ccm Wasser	237
Seifenlösung (1 : 500) 20 ccm + 10 ccm 5%ige Blutkörperchen-Aufschwemmung in phys. ClNa-Lösung + 10 ccm Wasser	215

Wie der Versuch zeigt, ist die bei Zusatz von Blut beobachtete Hemmung bedeutend größer (etwa 10 mal so groß) wie die vom Serum ausgeübte. Auch eine Aufschwemmung von Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung wirkt sehr stark abschwächend. Letztere Tatsache beweist schon, daß nicht etwa der Calciumgehalt des Blutes bzw. Serums durch Ausflockung der schwerlöslichen Calcium-Seife die Ursache der beobachteten Einwirkung sein kann, und dementsprechend tritt sie auch ebenso gut ein, wenn man mit vorher mit FNa versetztem Blute oder Serum arbeitet.

Die Zurückdrängung der Seifenhämolyse durch Serumzusatz[2]) auf die Aufhebung, resp. Verminderung der Oberflächenaktivität der Seifenlösung zurückzuführen, läge nahe. Doch wirken Seifenlösungen bereits in Konzentrationen hämolytisch,

[1]) Der „Wasserwert" der benutzten Capillare betrug bei 18° 99 Tropfen.

[2]) Vgl. H. Noguchi, Proc. of Soc. for experim. Biol. et Med. 4, Nr. 3, 1907; L. v. Liebermann, diese Zeitschr. 4, 25, 1907; H. Sachs und Carl Altmann, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 10.

wo noch keine nachweisbare Wirkung auf die Oberflächenspannung eintritt; diese zwei Eigenschaften scheinen also in keinem ursächlichen Zusammenhange zueinander zu stehen. — Ungezwungen lassen sich die Beobachtungen erklären, wenn man eine Verbindung von der Art der Adsorptionsverbindungen zwischen Seife und gewissen Bestandteilen des Blutes, wobei neben den Eiweißkörpern vor allem die Lipoide der Blutkörperchen in Betracht kommen, annimmt. Die entstandene Verbindung übt keine oder jedenfalls eine viel schwächer erniedrigende Wirkung auf die Oberflächenspannung aus als die ursprüngliche Seifenlösung. Nehmen wir an, daß die Adsorptionsverbindung gar keine Wirkung in dieser Richtung ausübt, so kann aus der beobachteten Tropfenzahl eine ungefähre Vorstellung gewonnen werden, wieviel Seife aus der Lösung von den Blutkörperchen in „Beschlag genommen" worden ist.

Bei Anwendung einer Capillare vom „Wasserwert" 96 Tropfen gaben folgende Tropfenzahlen bei verschiedenen Konzentrationen an Natriumoleat: 2promillige wässerige Natriumoleatlösung 20 ccm, Wasser 20 ccm, TZ. 220; 2promillige wässerige Natriumoleatlösung 10 ccm, Wasser 30 ccm TZ. 162; 2promillige wässerige Natriumoleatlösung 5 ccm, Wasser 35 ccm, TZ. 107. — Bei einem Gemisch von 20 ccm Natriumoleatlösung, 18 ccm Wasser, 2 ccm Blut wurde TZ. 158 gefunden. Man fand also eine TZ., die nicht einer Natriumoleatlösung 1 : 1000, sondern einer von ca. 1 : 2000 entsprach. Etwa die Hälfte des in der Lösung befindlichen Natriumoleats wurde von den 2 ccm Blut gebunden.

Daß hier besondere Verhältnisse, die in dem speziellen Verhalten der Seife zu den Eiweißkörpern, resp. Lipoiden begründet ist, vorliegen, zeigt auch die Tatsache, daß die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung einer Reihe von sehr stark oberflächenaktiven Körpern durch Zusatz viel größerer Blutmengen, bzw. Serummengen als in den obigen Versuchen keine Einbuße erleidet. Zu diesen Versuchen wurden gesättigte wässerige Lösungen von verschiedenen Estern benutzt.

1. Essigsaures Amyl (gesättigte wässerige Lösung) 9,5 ccm + 0,5 ccm Wasser; TZ. 157. — Essigsaures Amyl (ges. wäss. Lösung mit Spur FNa) 9,5 ccm + 0,5 ccm Serum (von Kaninchen); TZ. 156.

2. Tributyrin (ges. wäss. Lösung) 9,5 ccm + 0,5 ccm Wasser; TZ. 157. — Tributyrin (ges. wäss. Lösung mit Spur FNa) 9,5 ccm + 0,5 ccm Blut (von Kaninchen); TZ. 157.

3. Essigsaures Propyl (ges. wäss. Lösung) 9,5 ccm + 0,5 ccm Wasser; TZ. 128. — Essigsaures Propyl (ges. wäss. Lösung mit Spur FNa) 9,5 ccm + 0,5 ccm Blut (von Kaninchen); TZ. 129.

4. Buttersaures Äthyl (ges. wäss. Lösung) 9,5 ccm + 0,5 ccm Wasser; TZ. 160. — Buttersaures Äthyl (ges. wäss. Lösung mit Spur FNa) 9,5 ccm + 0,5 ccm Blut (von Kaninchen); TZ. 159.

5. Benzylmalonsaures Äthyl (ges. wäss. Lösung) 9,5 ccm + 0,5 ccm Wasser; TZ. 127. — Benzylmalonsaures Äthyl (ges. wäss. Lösung mit Spur FNa) 9,5 ccm + 0,5 ccm Blut (von Kaninchen); TZ. 129.

Jedenfalls zeigt die vorliegende Untersuchung, daß die angewandte Methode geeignet ist, das Vorhandensein gewisser Adsorptionsverbindungen zwischen Seife und Eiweiß, bzw. Lipoiden aufzudecken und experimentelles Material für diese physiologisch sicher wichtigen Komplexe zu liefern.

Über den Abbau einiger Polypeptide durch Bakterien.

I. Mitteilung.

Untersuchung mit Bact. coli commune.

Von

Takaoki Sasaki.

(Aus dem Laboratorium des Kyoundohospitals zu Tokio.)

(Eingegangen am 6. April 1812.)

Mit Recht betont Hofmeister[1]) die Schwierigkeit der Aufgabe, die chemischen Umsetzungen eines einzelligen Wesens exakt und systematisch zu studieren, um einen klaren Einblick in die in ihm verlaufenden, komplizierten chemischen Vorgänge zu schaffen, „denn der Vorteil, der sich dabei aus der Vereinfachung des anatomischen Baues zu ergeben scheint, wird mehr als aufgehoben durch den Umstand, daß hier eine Reihe von Funktionen, die sich beim höheren Tiere auf verschiedene Organe verteilen und so getrennter Untersuchung zugänglich sind, auf kleinstem Raume zusammengedrängt erscheint".

Trotz alledem sind die biologischen Eigenschaften der Kleinwesen vielfach eingehenden Untersuchungen unterworfen worden, und zwar manchmal mit erfreulichen Erfolgen, welchen wir z. B. heutzutage die Konstruierung vieler wichtiger Charakterisierungs- und Identifizierungsmethoden der Bakterien verdanken, z. B. Gelatineverflüssigung, Säure-, Gasbildung, Verhalten gegen verschiedene Zuckerarten und Alkohole usw.

Die Erforschung der proteolytischen Bakterienenzyme haben weiterhin viele Autoren mit Eifer unternommen, so Fermi, Emmerling, Eijkmann usw. Leider sind die Resultate manchmal so widerspruchsvoll, daß man schwer aus so ver-

---

[1]) F. Hofmeister, Die chemische Organisation der Zelle. 1901, S. 6.

wickelten Angaben eine zuverlässige Richtschnur zu finden vermag.

Die Lehre der Bakterienenzyme steckt offenbar noch in den Kinderschuhen. Es fehlt nicht an diesbezüglichen, vortrefflichen monographischen Darstellungen[1]. Fuhrmann[2] wollte z. B. die Bakterienproteasen als Enzyme tryptischer Natur auffassen, — eine Ansicht, die wohl m. E. leider nicht mehr auf der Höhe der heutigen wissenschaftlichen Erkenntnis steht. — Kurz und bündig faßt Kruse[3] in seinen klassischen Werke die Ergebnisse zusammen wie folgt:

„Aus unserer Darstellung ergibt sich, daß unsere Kenntnisse über die proteolytischen Enzyme der Mikroorganismen noch ziemlich lückenhaft sind. Soviel ist jedenfalls klar, daß zwischen den einzelnen Arten große Unterschiede bestehen, die wohl nicht bloß darauf beruhen, daß die Menge des gebildeten Enzyms wechselt, sondern ihre Wirkungsweise eine ungleiche und mehr oder weniger tiefgreifende ist. In dieser Beziehung haben sie bald mehr Ähnlichkeit mit dem Pepsin, bald mit dem Trypsin, ohne aber sonst mit diesen völlig übereinzustimmen."

Wenn man den neueren, enormen Fortschritt der Eiweißchemie durch die Arbeiten von E. Fischer und seinen Schülern und die daraus sich ergebende Erweiterung, Erkenntnis über Verdauungsenzyme[4], durch E. Abderhalden und seinen Schülern überblickt, muß es doch vielfach befremden, warum die neueren wissenschaftlichen Errungenschaften so wenig von der bakteriologischen Seite benutzt werden.

Daß das proteolytische Enzym der Bakterien, auch der einzelnen Arten, von einheitlicher Natur sei, ist noch niemals bewiesen. Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß bei Bakterien ein mehrfaches Gemisch der Enzyme anzunehmen ist. Wenn man also bei solchen Arbeiten die ganzen Eiweißkörper resp. Peptone verwendet, so ließen sich wohl verschiedene Endresultate erzielen. Aus dem Grunde ist es ohne weites klar, daß es sehr wünschenswert wäre, synthetische, chemisch wohl definierte Polypeptide heranzuziehen. Wir haben das Studium

[1] F. Fuhrmann, Vorlesungen über Bakterienenzyme, 1907; W. Kruse, Allgemeine Mikrobiologie, Kap. IX, S. 482 bis 587: Wandlungen der Eiweißkörper.

[2] Fuhrmann, ebenda S. 42.

[3] Kruse, ebenda S. 493.

[4] Ausführliches siehe bei Oppenheimer, Die Fermente, X. bis XII. Kapitel, S. 171 bis 241, 1909.

zuerst mit Bact. coli commune angefangen, denn die Sache liegt hier augenscheinlich etwas einfacher als bei anderen gelatineverflüssigenden Bakterien. Nach Fermi[1]) greifen nämlich die nicht gelatineverflüssigenden Bakterien kein genuines Eiweiß an. Pfanndler[2]) hat auch den Abbau der nativen Serumeiweißkörper durch Bact. coli untersucht, indem er die Bildung von Ammoniak und Indol als einen Indicator für zustandegekommenen Eiweißabbau verfolgte, und keine nachweisbare Lockerung im Gefüge des Eiweißmoleküls konstatiert, während das Wittepepton dagegen für Bact. coli wenigstens zum Teile angreifbar ist. Sonach hat er die Ähnlichkeit zwischen Colienzym und Erepsin hervorgehoben. Dem entgegen steht aber die Arbeit von A. E. Taylor[3]), nach der Bact. coli aus Casein keine Spur der Monoaminosäure abzuspalten imstande ist, was gegen ein Enzym von der Natur des Erepsins spricht. Für dieses Problem liefern gerade die Polypeptide, und zwar Glycyl-l-tyrosin und Glycylglycin[4]) ein geeignetes Mittel. Wir konnten sodann beim Glycyl-l-tyrosinversuch als hydrolytische Spaltungsprodukte Glykokoll und Tyrosin, und beim Glycylglycinversuch Glykokoll in ziemlich reichlicher Menge isolieren. Daraus darf man wohl schließen, daß hier offenbar ein erepsinartiger Spaltungsprozeß im Spiele sei. Wenn man einmal überlegt, wie massenhaft die Darmbakterien in unseren Verdauungstraktus saprophytieren, ja sogar manchmal einen wesentlichen Teil des Faeces ausmachen, läßt sich ohne weiteres denken, welch wichtige Rolle diese Eigenschaft des Bact. coli bei der Verdauung und somit für die Ernährung spiele. Von diesem Gesichtspunkte aus ließe sich wohl ein Beitrag für die alte Streitfrage[5]), ob die Darmbakterien für das Leben unentbehrlich seien, liefern. Unentbehrlich sind sie vielleicht nicht, doch könnten sie sehr wichtig sein.

---

[1]) Cl. Fermi, Centralbl. f. Bakt. 7, 469, auch Arch. f. Hygiene 10, 1890.

[2]) M. Pfanndler, Centralbl. f. Bakt. I. Abt., Orig.-Bd. 31, 113.

[3]) A. E. Taylor, Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 487.

[4]) Vgl. Abderhaldens Lehrbuch der physiol. Chem. 2. Aufl. 1909, S. 266.

[5]) Vgl. O. Cohnheim, Die Physiologie der Verdauung und Ernährung S. 292, 1908.

Wir haben auch mehrere Proben der Bakterien mit Glycyl-l-tyrosin angestellt und auch bei anderen pathogenen Bakterien die Ausscheidung der Tyrosinkrystalle beobachtet, worüber wir demnächst berichten werden. Wir erlauben uns zunächst, die Untersuchung mit Bact. coli commune mitzuteilen, weil sie nicht bloß für die chemische Mikrobiologie, sondern auch für die Verdauungsphysiologie von Nutzen sein dürfte.

Experimentelles.

Zur Darstellung des Glycyl-l-tyrosins haben wir das reine Chloracetyl-l-tyrosin[1]) nach der modifizierten Methode von E. Abderhalden und B. Oppler[2]) weiter behandelt. Das so erhaltene krystallinische chlorfreie Glycyl-l-tyrosin haben wir durch Millonsche Reaktion, Stickstoffbestimmung und Überführung in Esterchlorhydrat identifiziert.

50 ccm Fränkelscher Nährlösung ohne Asparagin, anstatt der Natronlauge mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, setzten wir 2,0 g Glycyl-l-tyrosin zu und sterilisierten das Gemisch üblicherweise im Kochschen Dampftopf, wobei Glycyl-l-tyrosin ganz klar in Lösung ging. Nach dem Erkalten haben wir damit zwei 24 Stunden alte Agarstrichkulturen von Bact. coli commune, in einigen Kubikzentimetern steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, beschickt und dann im Brutschrank bei 37° stehen gelassen. Nach 10 Tagen begann die Auskrystallisation der weißen Masse und erreichte nach 3 Wochen ihr Maximum. Nach 4 Wochen haben wir eine Öse voll davon auf mehrere Agarplatten geimpft, um die Reinheit der Bakterien zu konstatieren. Diese Manipulation ist notwendig, denn wir mußten trotz der sorgfältigen Arbeit einige Male bei Versuchen mit anderen Bakterien nach so langem Stehenlassen im Brutschrank wegen der nachträglichen Verunreinigung die Untersuchung unterbrechen. Nach der Sterilisierung im Dampftopfe und Stehenlassen bis zum nächsten Tage wurde die auskrystallisierte Masse abfiltriert und mit kaltem Wasser sorgfältig gewaschen, abgepreßt und in einen Vakuumexsiccator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet; sie wog 0,44 g. Die aus siedendem Wasser unter Zusatz der Tierkohle umkrystallisierten, typischen Tyrosinkrystalle (0,29 g) zeigten Millonsche Reaktion und schmolzen bei ca. 306° (unkorr.).

Zur Analyse wurden sie noch einmal ohne Zusatz von Tierkohle aus siedendem Wasser umkrystallisiert und bei 100° getrocknet.

0,1021 g Substanz: 0,2235 g CO_2, 0,0572 g H_2O.

$C_9H_{11}O_3N$.	Ber.:	C 59,64,	H 6,12,
	Gef.:	C 59,70,	H 6,27.

[1]) E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäure usw. S. 344 bis 347.

[2]) E. Abderhalden und B. Oppler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 296.

Das trübe Filtrat wurde mit Tierkohle geklärt und mit 6 g β-Naphthalinsulfochlorid in üblicher Weise[1]) behandelt und so Glykokoll als β-Naphthalinsulfoglycin isoliert. Die chlorfrei gewaschenen Krystalle wogen 1,27 g (entsprechend 0,36 g Glykokoll). F. ca. 153° (unkorr.). Nach der einmaligen Umkrystallisation aus heißem Wasser schmolzen sie bei 156° (unkorr.) und erwiesen sich bei der Mischprobe mit dem aus Glykokoll „Kahlbaum" dargestellten β-Naphthalinsulfoglycin als identisch.

0,1196 g Substanz: $^{n}/_{10}$-NH_3 4,6 ccm.

$C_{12}H_{11}O_4SN$. Ber.: 5,28 Gef.: 5,38.

Bei einer anderen Probe schlug der Versuch fehl, das Glykokoll als Pikrat aus dem Filtrat zu isolieren, indem dabei auch schwer lösliches Kaliumsalz (Monokaliumphosphat der Fränkelschen Lösung) mitfiel und somit die Isolierung des reinen Glycinpikrates erschwerte. Bei diesem Versuche ergab sich jedoch eine bessere, fast doppelte Ausbeute an rohem Tyrosin, indem wir dabei 2,0 g Glycyl-l-tyrosin und dazu nur 25 ccm Fränkelsche Lösung mit Asparagin verwendeten.

Wir haben noch mehr Reagensglasproben (unter Verwendung von 0,2 g Glycyl-l-tyrosin) mit Bact. coli von verschiedenen Stämmen angestellt und konstant die Ausscheidung der Tyrosinkrystalle konstatiert, während bei Kontrollversuchen mit Glycyl-l-tyrosin ohne Bakterien aber sonst ganz gleich behandelt, niemals Abspaltung der Tyrosinkrystalle stattfand.

Versuch mit Glycylglycin.

In dem nach E. Fischer dargestellten Glycylglycin[2]) haben wir durch Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und durch Geschmack eine Beimengung von Glykokoll ausgeschlossen. Nach dem Auflösen von 2,0 g Glycylglycin in 25 ccm Fränkelscher Lösung ohne Asparagin, mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, wurde die Lösung wie üblich im Dampftopfe sterilisiert.

Nach dem Erkalten wurden zwei 24 Stunden alte Agarstrichkulturen vom Bact. coli in einigen Kubikzentimetern physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, beschickt. Nachdem die bakteriologische Reinheit nach 4 Wochen langem Stehenlassen im Brutschrank konstatiert worden ist, wurde die stark getrübte Flüssigkeit einfach abfiltriert. Das noch trübe Filtrat wurde mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure neutralisiert und unter Zusatz von Tierkohle auf dem Wasserbade erhitzt. Die klar abfiltrierte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade ganz abgedampft und wieder in ca. 15 ccm Wasser aufgelöst, eventuell wieder abfiltriert, mit 12 g β-Naphthalinsulfochlorid in üblicher Weise kondensiert.

---

[1]) E. Fischers Anleitung, 8. Aufl., S. 90.

[2]) Glycinanhydrid wurde direkt aus Glykokollesterchlorhydrat dargestellt. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 2930, 1906 und 38, 607, 1905; auch Untersuchungen über Aminosäure usw. S. 424.

Die zuerst auskrystallierte, mit kaltem Wasser sorgfältig chlorfrei gewaschene Masse wog 4,52 g (entsprechend 1,28 g Glykokoll). Nach einmaliger Umkrystallisation aus heißem Wasser schmolz sie bei 156° (unkorr.). Bei der Mischprobe mit dem aus Glykokoll dargestellten β-Naphthalinsulfoglycin erwies sie sich als identisch. Zur Analyse wurde sie im Vakuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet.

0,2220 g Substanz: CO_2 0,4402 g, H_2O 0,0830 g.
0,3010 g Substanz: $^n/_{10}$-NH_3 11,2 ccm.

$C_{12}H_{11}O_4SN$. Ber.: C 54,34, H 4,15, N 5,28.
Gef.: C 54,08, H 4,19, N 5,21.

Als Kontrollversuch wurde 1,0 g Glycylglycin in 25 ccm von mit Ammoniak schwach alkalisch gemachter Fränkelscher Lösung ohne Asparagin 4 Wochen lang steril im Brutschrank stehen gelassen, sodann ganz gleich wie im Coliversuch behandelt und schließlich mit 2 Mol. β-Naphthalinsulfochlorid gekuppelt. Die auskrystallisierte, chlorfrei gewaschene Masse wog über Chlorcalcium getrocknet 1,6 g — 61,9% der Theorie. Die noch einmal aus heißem Wasser umkrystallisiert und dann bei 100° vom Krystallwasser befreite Substanz schmolz bei ca. 178° bis 180° (unkorr.). Bei der Mischprobe mit der direkt aus Glycylglycin dargestellten Substanz erwies sie sich als identisch.

0,2094 g Substanz: $^n/_{10}$-NH_3 12,9 ccm.

$C_{14}H_{14}O_5N_2S$. Ber.: 8,69 Gef.: 8,62.

Damit ist bewiesen, daß die hydrolytische Spaltung von Glycylglycin nicht auf einem technischen Fehler beruht.



Zur Kenntnis der fermentativen Funktion der Tiergewebe bei Vergiftung mit verschiedenen Toxinen.

Von

E. Großmann.

(Aus dem Laboratorium für biolog. Chemie des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, St. Petersburg.)

(Eingegangen am 8. April 1912.)

Angesichts des nahen Verhältnisses der Immunitätsfragen zur Lehre von den Fermenten erscheinen in der letzten Zeit immer häufiger Untersuchungen über die Beziehungen der Fermente zur Infektion, Intoxikation und anderen Immunitätsfragen. Viele Autoren studierten den Fermentgehalt im Serum und in den Tiergeweben bei verschiedenen Intoxikationen, Infektionen und Vergiftungen. Hierher gehören die Arbeiten Clercs, Garniers, Battellis u. a. Die Mehrzahl dieser Arbeiten bezieht sich auf Serumenzyme und untersucht deren Veränderungen unter dem Einfluß der erwähnten Faktoren; der Zustand der Gewebsenzyme unter den gleichen Bedingungen wurde aber von wenigen Autoren untersucht.

Zu den Arbeiten über das Verhalten der Gewebsenzyme bei Infektion gehören die Untersuchungen Grinews und Aleschins, die an Tieren ausgeführt wurden, die mit Tuberkulose, Staphylococcus, Friedländerschem Bacillus und Kolibacillen infiziert waren. Die Autoren studierten das Verhalten der Lipase, Amylase, Katalase in den Geweben der mit den genannten Bakterien infizierten Tiere; nach ihren Beobachtungen erwies sich die fermentative Funktion der Gewebe unter dem Einfluß der Infektion im Vergleich zur Norm beträchtlich verändert.

Die vorliegende Arbeit stellt sich zur Aufgabe die Untersuchung der fermentativen Tätigkeit der Gewebe der Tiere die mit verschiedenen Toxinen vergiftet wurden, und Prüfung der Frage, ob irgend ein Verhältnis der Intoxikation des Organismus mit dem einen oder anderen Toxin zur fermentativen Funktion seiner Gewebe nachzuweisen ist. Die Arbeit bezweckt die Untersuchung, wie sich an den Gewebsenzymen die akute, subakute und chronische Vergiftung des Organismus mit verschiedenen Toxinen äußert, in welchem Maße der Einfluß verschiedener Intoxikation sich an der fermentativen Funktion verschiedener Gewebe des Organismus kundgibt.

Die Untersuchung wurde an Meerschweinchen durchgeführt. Wir untersuchten das Verhalten der Gewebsenzyme in den Geweben normaler Tiere und solcher, die durch Diphtherie-, Tetanus- und Dysenterietoxin vergiftet wurden. Wir studierten das Verhalten der Lipase, Amylase und Katalase. Ein Vergleich der Daten, die wir bei normalen Tieren erhalten haben und bei mit verschiedenen Toxinen vergifteten Tieren, wird uns ein Urteil darüber ermöglichen, wie sich die fermentative Tätigkeit der Gewebe des Organismus unter dem Einfluß der Vergiftung mit verschiedenen Toxinen verändert.

Methodik der Untersuchung.

Zur Untersuchung der fermentativen Funktion der Gewebe wurden die Organe des Tieres gleich nach der Sektion in kleine Stückchen zerschnitten und in einen Vakuumapparat gebracht, wo sie $^1/_8$ bis 72 Stunden bei niederer Temperatur und kräftigem Durchströmen warmer Luft getrocknet werden. Nach dem Trocknen wurden die Organe zu einem feinen Pulver zerrieben. Aus diesem Pulver bereitet man unter Beachtung aller aseptischen Kautelen Extrakte durch Vermischen eines bestimmten Gewichtsquantums des trockenen Pulvers des einen oder des anderen Organs mit einem bestimmten Volumen sterilen Wassers.

Die lipolytische Kraft untersuchten wir folgendermaßen: Es wird ein Extrakt bereitet aus 0,1 g Trockensubstanz und 20 ccm sterilen destillierten Wassers. Dieses Extrakt wird mit 10 ccm einer 1%igen Monobutyrinlösung vermischt. Zu gleicher Zeit bereitet man zur Kontrolle aus demselben Organ ein ebensolches Extrakt, daß man aber

vor dem Zusetzen von Monobutyrin 2 bis 3 Minuten zur Zerstörung des Enzyms aufkochen läßt; nach der Abkühlung wird auf das ursprüngliche Volum ergänzt und nun wiederum 10 ccm einer 1 °/₀igen Monobutyrinlösung hinzugefügt. Beide Kölbchen, Versuchs- und Kontrollkölbchen, werden in einen Thermostat bei 37° gesetzt. Nach 4 und 24stündigem Stehen im Thermostat werden die Mischungen der Extrakte mit Monobutyrin untersucht. Die fermentative Kraft beurteilen wir nach der Anzahl Kubikzentimeter einer $^n/_{100}$-KOH-Lösung, die zur Neutralisierung der aus dem Monobutyrin unter dem Einfluß der im Extrakt enthaltenen Lipase entstandenen Buttersäure notwendig sind. Zur Untersuchung nehmen wir 5 ccm der Mischung, setzen etwas Wasser und einige Tropfen einer 1 °/₀igen Phenolphthaleinlösung zu und titrieren dann mit $^n/_{100}$-Kalilauge. Aus der Anzahl Kubikzentimeter KOH, die zur Neutralisierung von 5 ccm Mischung aus dem Versuchskölbchen verwendet wurden, subtrahieren wir die Zahl Kubikzentimeter (gewöhnlich 0,4 bis 0,9), die für die Titration von 5 ccm Mischung des Kontrollkölbchens notwendig war. Um das gewonnene Resultat in Zahlen auszudrücken, die 1 g Trockensubstanz entsprechen, muß man die erhaltene Zahl mit 6 multiplizieren, da die ganze Mischung 30 ccm enthält, und dann folgt wiederum eine Multiplikation mit 10, weil das Extrakt aus 0,1 g Trockensubstanz bereitet ist. Wir untersuchten folgende Organe auf ihre lipolytische Kraft: Knochenmark samt Knochen, Leber, Nieren, Muskeln, Herz, Gehirn und Lungen. Untersucht wurde das Material zweimal, und zwar nach 4 und 24stündigem Stehen im Thermostat.

Die Wirkung der Amylase untersuchten wir in 2facher Weise. Einerseits untersuchten wir nach Wohlgemuths Vorgehen die Stärkeverdauung durch die Extrakte bis zur Dextrinbildung, andererseits aber prüften wir die gesamte diastatische Energie, die das einschlägige Extrakt entwickelt, indem wir bestimmten, welche Anzahl Milligramm Zucker sich durch die Beeinflussung der Stärke durch ein im Extrakte enthaltenes Enzym bildet.

Zur Bestimmung des amylolytischen Vermögens nach Wohlgemuth stellten wir eine Reihe Reagensgläser auf, in die 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, 1,0 ccm Extrakt des einen oder anderen Organes hineingegeben wurde. (Die Extrakte wurden bereitet aus 0,03 g Trockensubstanz und 10 ccm Wasser.) Wohlgemuth empfiehlt in geometrischer Progression steigende Quanten anzuwenden (0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6), angesichts der kräftigen amylolytischen Wirkung der Extrakte verwendeten wir aber die obenerwähnten Mengen. Alle Reagensgläser wurden durch Wasserzusatz auf ein gleiches Volumen gebracht und dann je 5 ccm einer 1 °/₀igen Stärkelösung hinzugefügt. Nach 1stündigem Stehen im Thermostat fügten wir jedem Reagensglas 2 Tropfen einer $^n/_{100}$-Jodlösung hinzu und notierten uns jenes Reagensglas, in dem keine Blaufärbung mehr eintritt, sondern bereits Spuren einer rosigen Verfärbung (Erytrodextrin) zum Vorschein kommen. Durch eine bestimmte Berechnung drücken wir die gewonnenen Daten in Zahlen aus, die anzeigen, welches

Quantum Stärke durch 1 g des gegebenen trockenen Organes verdaut wird. Wir untersuchten folgende Organe auf ihr amylolytisches Vermögen: Leber, Nieren, Lungen, Gehirn und Muskeln.

Die gesamte diastatische Energie wurde bestimmt durch Untersuchung der Anzahl von Milligrammen Zucker, die sich aus der Stärke in 24 bis 48 Stunden unter dem Einfluß der Extrakte aus 1%iger Stärkelösung bilden. Die Extrakte wurden bereitet aus 0,05 g des trockenen Organes und 10 ccm Wasser (Muskeln 0,1 und 20 ccm Wasser). Zu den Extrakten wurden je 10 ccm einer 1%igen Stärkelösung hinzugesetzt. Aus antiseptischen Rücksichten wurden zur Mischung einige Tropfen Toluol zugesetzt und sie dann in den Thermostat gestellt. Nach 24 bzw. 48 Stunden wurde eine quantitative Bestimmung des in 5 ccm Mischung enthaltenen Zuckers gemacht. Diese quantitative Untersuchung machten wir nach F. Lehmanns Methode, die auf Titration des durch den Zucker unreduziert gebliebenen schwefelsauren Kupfers der Fehlingschen Flüssigkeit mittels Natriumthiosulfat beruht. Die Untersuchung wurde an 5 ccm der Mischung ausgeführt, zu denen 5 ccm Fehling I und 5 ccm Fehling II hinzugesetzt wurden; die Titration mit Natriumthiosulfat ermöglicht uns, durch eine bestimmte Berechnung zu erfahren, welches Quantum Zucker in 5 ccm Mischung enthalten ist, und wir können daraus Aufschluß erhalten, welche Menge Zucker sich unter dem Einfluß der fermentativen Kraft von 1 g Organtrockensubstanz bildet.

Das Verhalten der Katalase studierten wir durch die Bestimmung des Quantums H_2O_2, das durch die Organextrakte zersetzt wird. Die Extrakte wurden bereitet aus 0,01 g Organtrockensubstanz und 10 ccm Wasser (für Muskelgewebe 0,05 g auf 20 ccm Wasser). Quantitativ bestimmten wir die H_2O_2-Zersetzung durch Titration mit $^n/_{50}$-$KMnO_4$. Das Extrakt mit hinzugefügtem Wasserstoffsuperoxyd wurde auf 15 Minuten in den Thermostat gestellt und dann quantitativ untersucht. Durch eine bestimmte Berechnung konnten wir die gewonnenen Resultate in Zahlen ausdrücken, die anzeigen, welche Quanten H_2O_2 durch 1 g Organtrockensubstanz zerlegt werden. Wir untersuchten die Leber, die Nieren, Lungen, Herz und Muskeln auf das Verhalten der Katalase.

Mit Hilfe der dargelegten Methodik untersuchten wir die fermentative Funktion der Gewebe sowohl normaler Tiere als auch solcher, die durch das eine oder andere Toxin vergiftet waren.

Es mögen nun die Daten folgen, die wir bei der Untersuchung der fermentativen Funktion der normalen Tiergewebe erhalten haben.

Lipase. Die unten angeführten Zahlen zeigen an, welche Mengen (in Kubikzentimeter) $^n/_{100}$-KOH-Lösung notwendig sind zur Neutralisierung der aus dem Monobutyrin durch 1 g Organtrockensubstanz sich entwickelnden Buttersäure.

Wirkungsdauer des Enzyms (Lipase): 4 Stunden.

Nr. der Tiere	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
1	6	66	84	222	162	60	144
2	6	36	78	180	150	54	138
3	6	66	90	258	156	60	144
4	6	84	90	294	168	84	228
5	12	54	104	216	174	54	144
6	6	60	54	198	138	54	84
7	18	60	138	210	180	72	180
8	6	42	72	204	168	90	132
9	6	48	138	216	150	96	120
10	12	30	84	192	180	84	132
Durchschnittszahl	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6

Wirkungsdauer desselben Fermentes: 24 Stunden.

Nr. der Tiere	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
1	30	150	156	402	276	138	270
2	12	78	150	300	228	114	228
3	18	102	150	428	222	96	240
4	12	114	162	390	246	144	258
5	18	90	174	390	276	120	228
6	30	120	156	360	228	144	174
7	30	162	204	360	228	150	270
8	12	90	120	312	180	150	198
9	12	96	174	408	210	120	210
10	18	156	162	336	210	180	222
Durchschnittszahl	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8

Aus diesen Daten ist zu ersehen, daß die größte lipolytische Energie der Leber zukommt, dann folgen die Nieren, Lungen, Herz, Gehirn, Muskeln und Knochenmark.

Die amylolytische Wirkung wird ausgedrückt durch die Anzahl Kubikzentimeter einer 1%igen Stärkelösung, die während einer Stunde durch 1 g Trockensubstanz in Dextrine verwandelt werden.

Nr. der Tiere	Leber	Lungen	Nieren	Gehirn	Muskeln
1	2777	4166	8333	8333	1000
2	4166	8333	4166	2777	833
3	4166	2777	2777	4166	833
4	2083	2777	4166	8333	1000
5	2777	8333	2777	2083	833
6	4166	2083	4166	8333	1000
7	8333	8333	2083	2777	1000
8	2777	4166	4166	2777	833
9	4166	4166	2777	4166	1000
10	2777	8333	4166	4166	833
Durchschnittszahl	3818,8	5346,7	3957,7	4791,1	916,5

Aus diesen Zahlen ist ersichtlich, daß die höchste amylolytische Wirkung die Lungen und das Gehirn besitzen, dann die Nieren und die Leber. Die Muskeln bewirken aber nur eine sehr geringe Stärkespaltung.

Die gesamte diastatische Energie der Gewebe normaler Tiere stellen wir durch die Milligramme Zucker dar, die aus der Stärke durch 1 g Trockensubstanz im Laufe von 24 Stunden gebildet werden.

Diastatische Wirkung.

Nr. der Tiere	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
1	1016	1216	1112	88	324
2	1088	1192	960	664	108
3	888	1016	776	144	384
4	912	1112	688	512	324
5	968	1192	968	808	66
6	760	968	640	240	480
7	1216	1264	912	912	252
8	1136	1160	864	664	324
9	1064	1192	1016	336	384
10	1112	912	912	648	384
Durchschnittszahl	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0

Untersuchung derselben Gemische nach 48 Stunden.

Nr. der Tiere	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
1	1416	1584	1472	760	534
2	1532	1840	1200	1112	324
3	1240	1496	976	480	480
4	1816	1712	1320	960	384
5	2272	2016	1136	1264	324
6	1448	1816	1064	960	528
7	1496	2272	1532	1064	384
8	1664	1688	1216	712	480
9	1768	2168	2016	680	568
10	1664	1712	1320	1112	498
Durchschnittszahl	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4

Diese Tabelle läßt erkennen, daß die gesamte diastatische fermentative Funktion am schärfsten in den Nieren ausgeprägt ist, dann folgen Leber, Lungen, Gehirn und Muskeln.

Die folgende Tabelle enthält Daten über das Verhalten der Katalase in normalen Organen eines gesunden Meerschweinchens. Die Zahlen drücken die Wasserstoffsuperoxyd-

mengen (in Grammen) aus, die durch 1 g Organtrockensubstanz in 15 Minuten zersetzt werden (für das Herz: 30 Minuten).

Nr. der Tiere	Leber	Nieren	Lungen	Herz
1	91,732	37,332	17,000	4,896
2	86,292	34,272	14,620	4,080
3	91,732	31,212	18,360	2,312
4	88,740	34,272	18,700	3,196
5	88,740	33,796	14,110	1,764
6	36,720	14,280	7,820	1,020
7	39,780	34,034	19,890	2,516
8	79,560	16,660	3,400	2,516
9	82,620	59,500	18,700	9,180
10	85,680	61,880	37,400	7,140
Durchschnittszahl	77,159	35,723	17,000	3,862

Aus diesen Zahlen folgt, daß die Funktion der Katalase am stärksten in der Leber entwickelt ist, dann in den Nieren, Lungen und Herz.

Die angeführten Durchschnittszahlen für alle untersuchten Enzyme sind natürlich durch einfache Berechnung erhalten worden. Viele dieser Daten suchten wir dadurch nachzuprüfen, daß wir Mischungen aus gleichen Teilen derselben Organe aller Tiere verfertigten und nun ihr fermentatives Vermögen untersucht haben. Die Resultate fielen sehr oft mit den mathematischen Durchschnittszahlen zusammen oder waren denselben sehr nahe. So erhielten wir z. B. für die Leberlipase 210 und 360; mathematische Durchschnittszahlen: 219 und 368,6.

Die angeführten Durchschnittszahlen werden zum Vergleich mit den mittleren Daten herangezogen werden, die wir bei Tieren erhalten, welche durch das eine oder andere Toxin vergiftet waren.

Das Verhalten der fermentativen Funktion des Gewebes bei Tieren, die durch Diphtherietoxin vergiftet wurden.

Den Einfluß des Toxins auf die fermentative Gewebsenergie studierten wir durch ein- oder mehrmalige Einspritzung verschiedener Toxinmengen an Meerschweinchen. Die Tiere wurden entweder durch solche Dosen vergiftet, die den Tod rasch in 24 bis 48 Stunden herbeiführten, oder durch ein- oder mehrmalige Dosen, welche subakute und chronische Vergiftungen verursachten von einer Dauer von 5 bis 21 Tagen. Das Toxin wurde genau dosiert, und zwar durch Lösung im sterilen Wasser

im sterilen Gefäß. Die Tiere wurden vergiftet durch subcutane Einspritzung in der Bauchgegend mittels steriler Spritze.

Alle Tiere, die durch das Diphtherietoxin vergiftet waren, zerfallen in drei Gruppen. Die erste Gruppe bilden Tiere, die einer akuten Vergiftung anheimfielen, die zweite einer subakuten, und die dritte einer chronischen.

Erste Gruppe. Zur Erzeugung einer akuten Vergiftung spritzten wir den Meerschweinchen Nr. 12, 13, 14 und 19 folgende Mengen Diphtherietoxin ein:

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge ccm	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung	Das Gewicht des Tieres am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g
12	0,035	1	328	325
13	0,04	2	345	342
14	0,04	2	348	346
19	0,035	2	325	320

Die zweite Gruppe umfaßt Tiere, die einer subakuten Diphtherietoxinvergiftung anheimfielen. Hierher gehören die Meerschweinchen Nr. 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 20 und 21. Diesen 10 Tieren wurden folgende Toxinmenge eingespritzt:

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge ccm	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung	Das Gewicht des Tieres am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g
1	0,00625 und nach 1 Woche 0,03	9	340	272
2	0,005 und nach 1 Woche 0,035	9	336	270
3	0,01	9	320	260
6	0,02	5	355	285
7	0,03	5	390	320
8	0,02	5	350	278
9	0,01	6	325	275
10	0,01	6	328	270
20	0,015	7	345	302
21	0,015	7	348	304

Dritte Tiergruppe. Bei den Meerschweinchen Nr. 4, 5, 11, 15, 16 und 17 wurde eine dauerhafte chronische Ver-

giftung erzeugt von einer Dauer von 12 bis 21 Tagen. Diese Tiere erhielten folgende Diphtherietoxinmengen eingespritzt:

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge ccm	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung	Das Gewicht des Tieres am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g
4	0,0125 und nach 14 Tagen 0,04	17	360	315
5	0,01 und nach 15 Tagen 0,02	19	344	300
11	0,015	12	348	310
15	0,01 und nach 9 Tagen 0,01	20	340	288
16	0,01 und nach 9 Tagen 0,01	21	325	285
17	0,01 und nach 9 Tagen 0,01	21	395	355

Nun gehen wir zur Erörterung des Verhaltens jeder fermentativen Funktion in den Geweben jeder der vergifteten Tiergruppen über. Zur Raumersparnis werden wir bloß Durchschnittszahlen anführen, die das Verhalten eines Enzyms in den gleichnamigen Geweben einer ganzen Tiergruppe charakterisieren.

Die lipolytische Gewebsenergie bei Tieren der ersten Gruppe, die akut vergiftet waren, stellte sich in folgenden Zahlen dar:

Wirkungsdauer des Fermentes: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	22,5	60,0	118,5	229,5	190,5	100,5	150,0
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
% des Zuwachses	+ 167,8	+ 9,8	+ 27,1	+ 4,7	+ 17,1	+ 41,9	+ 3,7

Wirkungsdauer des lipolytischen Fermentes: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	43,5	118,0	186,0	370,5	246,0	166,5	231,0
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
% des Zuwachses	+ 126,5	+ 1,9	+ 15,6	+ 0,5	+ 6,8	+ 22,7	+ 0,5

Aus den zwei oben angeführten Tabellen folgt, daß eine akute Diphtherietoxinvergiftung eine geringe Steigerung der lipolytischen Energie verursacht. Diese Steigerung gibt sich besonders an der Wirkung des Fermentes in den ersten 4 Stunden kund; sie äußert sich zwar auch in der nachfolgenden Fermentwirkung, aber wohl in schwächerem Grade. Die Steigerung der lipolytischen Energie ist am meisten ausgeprägt im Knochenmark, Herz, Nerven und Gehirn; in den anderen Organen unterscheidet sich die lipolytische Energie nur wenig vom normalen Verhalten und läßt bloß eine sehr geringe Steigerung erkennen.

Die lipolytische Energie in den Geweben der zweiten Gruppe der Tiere, die subakut vergiftet wurden, äußert sich in folgenden Zahlen:

Wirkungsdauer des Fermentes: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	13,8	32,4	40,8	154,2	123,0	34,2	105,0
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in % .	+ 64,2	− 40,6	− 56,2	− 29,6	− 24,3	− 51,7	− 27,4

Wirkungsdauer des lipolyt. Fermentes derselben Extrakte: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	39,6	76,2	107,4	255,6	189,2	83,2	192,0
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in % .	+ 106,2	− 34,2	− 33,2	− 30,6	− 17,8	− 38,6	− 16,4

Die zwei Tabellen charakterisieren das Verhalten der Lipase in den Organen der Tiere, welche eine subakute Diphtherietoxinvergiftung durchgemacht hatten. Die gewonnenen Daten zeigen, daß die lipolytische Energie in allen Geweben außer Knochenmark hochgradig herabgesetzt erscheint. Das Knochenmark zeigt aber hingegen eine sehr wesentliche Steigerung (64,2% und 106,2%).

Die dritte Meerschweinchengruppe, Nr. 4, 5, 11, 16 und 17, bezieht sich auf Tiere, welche unter dem Einfluß einer chronischen Intoxikation standen. Diese dauerhafte Diphtherietoxinvergiftung beeinflußte die Lipase in folgender Weise:

Wirkungsdauer des Fermentes: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	15,0	21,0	60,0	159,0	122,0	46,0	99,0
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in % .	+ 78,5	− 61,5	− 35,6	− 27,3	− 24,9	− 35,0	− 31,4

Wirkungsdauer des Fermentes: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	38,0	64,0	123,0	253,0	189,0	96,0	171,0
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in % .	+ 97,7	− 44,7	− 23,5	− 31,3	− 18,0	− 29,2	− 25,5

Diese Tabellen zeigen, daß auch bei chronischer Vergiftung eine Verminderung der lipolytischen Energie in allen Organen außer dem Knochenmark bestehen bleibt.

Vergleichsdaten, die die Veränderungen der Lipase der Organe bei akuter, subakuter und chronischer Diphtherietoxinvergiftung darstellen, kann man aus folgender Tabelle ersehen:

Organe	% Differenz bei akuter Vergiftung		% Differenz bei subakuter Vergiftung		% Differenz bei chronischer Vergiftung	
	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.
Knochenmark . .	+ 167,8	+ 126,5	+ 64,2	+ 106,2	+ 78,5	+ 94,2
Muskeln	+ 9,8	+ 1,9	− 40,6	− 34,2	− 61,5	− 97,7
Herz	+ 27,1	+ 15,6	− 56,2	− 33,2	− 35,6	− 23,5
Leber	+ 4,7	+ 0,5	− 29,7	− 30,6	− 27,3	− 31,3
Nieren	+ 17,1	+ 6,8	− 24,3	− 17,8	− 24,9	− 18,0
Gehirn	+ 41,9	+ 22,7	− 51,7	− 38,6	− 35,0	− 29,2
Lungen	+ 3,7	+ 0,5	− 27,4	− 16,4	− 31,4	− 25,5

Die Diphtherieintoxikation beeinflußt die lipolytischen Gewebsfermente folgendermaßen: Die fermentative Tätigkeit der Knochenmarkslipase ist bei akuter, subakuter und chronischer Intoxikation gesteigert; die Lipase aller anderen Organe ist bei der akuten Intoxikation in ihrer Wirkung erhöht, bei der subakuten und chronischen abgeschwächt.

Gehen wir nun zu einer anderen fermentativen Funktion über, und zwar zu der amylolytischen. Die akute Intoxikation äußert sich an der Stärkespaltung bis zu den Dextrinen folgendermaßen:

	Leber	Lungen	Nieren	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	4166,0	5832,8	4166,0	4999,4	966,6
Norm	3818,8	5346,7	3957,7	4791,1	916,5
% des Zuwachses .	+ 9,1	+ 9,0	+ 5,2	+ 4,3	+ 5,4

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß eine akute Diphtherietoxinvergiftung das amylolytische Enzym im Sinne einer geringen Steigerung seiner Wirksamkeit beeinflußt. Diese Steigerung ist am deutlichsten an der Leber und an den Lungen zu bemerken, an den anderen Organen aber schwächer.

Ein subakute Vergiftung verursacht bereits eine beträchtlichere Verstärkung der Amylase in allen untersuchten Organen, wie dies aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist:

	Leber	Lungen	Nieren	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	5277,2	6666,2	5416,1	6249,5	1049,9
Norm	3818,8	5346,7	3957,7	4791,1	916,5
°/₀ des Zuwachses .	+ 38,2	+ 24,6	+ 36,8	+ 30,4	+ 14,5

Folgende Tabelle stellt weiterhin Daten dar über das Verhalten der Fermente bei einer dauernden chronischen Vergiftung:

	Leber	Lungen	Nieren	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	5555,0	6944,0	6249,5	6944,0	1125,0
Norm	3818,8	5346,7	3957,7	4791,1	916,5
°/₀ des Zuwachses .	+ 45,5	+ 29,9	+ 57,9	+ 44,9	+ 22,8

Wir sehen, daß eine lang dauernde Diphtherietoxinvergiftung sich in einer noch schärferen Erhöhung der amylolytischen Energie äußert, welche Erhöhung in den Nieren besonders ausgeprägt erscheint.

Wenn wir die Zahlen über die amylolytische Kraft der Gewebe in allen Meerschweinchengruppen nebeneinanderstellen, so erhalten wir folgende Tabelle:

Organe	°/₀ des Zuwachses bei akuter Vergiftung	°/₀ des Zuwachses bei subakuter Vergiftung	°/₀ des Zuwachses bei chronischer Vergiftung
Leber	+ 9,1	+ 38,2	+ 45,5
Lungen	+ 9,0	+ 24,6	+ 29,9
Nieren	+ 5,2	+ 36,8	+ 57,9
Gehirn	+ 4,3	+ 30,4	+ 44,9
Muskeln . . .	+ 5,4	+ 14,5	+ 22,8

Diese Tabelle zeigt, daß mit längerer Dauer der Diphtherietoxinvergiftung die amylolytische Energie in allen Geweben ansteigt, am meisten aber bei chronischer Vergiftung.

Gehen wir nun zu der gesamten diastatischen Energie über. Die Daten stellen die Anzahl Milligramme Zucker dar, der durch die fermentative Einwirkung auf die Stärke 1 g des trockenen Organs gebildet wird.

Erste Gruppe — akut vergiftete Tiere.

Wirkungsdauer des Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1064,0	1339,2	958,4	777,6	316,8
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
°/₀ des Zuwachses .	+ 4,7	+ 19,3	+ 8,0	+ 55,0	+ 4,5

Wirkungsdauer des Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1715,2	2052,8	1436,8	1336,0	478,8
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses .	+ 5,1	+ 12,1	+ 8,4	+ 46,7	+ 6,3

Die angeführten Tabellen zeigen, daß die diastatische Energie unter dem Einfluß der akuten Diphtherieintoxikation in allen Organen ansteigt. Diese Steigerung ist am meisten im Gehirn wahrzunehmen.

Zweite Gruppe — subakut vergiftete Tiere.

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1105,6	1440,0	1114,4	1061,6	349,2
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses .	+ 8,8	+ 28,3	+ 25,9	+ 111,6	+ 15,2

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1783,2	2035,2	1670,8	1916,0	504,0
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,5
% des Zuwachses .	+ 9,3	+ 11,4	+ 26,0	– 110,4	+ 11,9

Die obigen Tabellen zeigen, daß die diastatische Energie aller Organe bei subakuter Diphtherietoxinvergiftung gesteigert erscheint. In einigen Organen bei einzelnen Tieren ist diese Steigerung besonders hochgradig, aber auch die Durchschnittszahlen lassen einen bedeutenden Zuwachs erkennen. Die Steigerung des diastatischen Vermögens ist besonders im Gehirn ausgeprägt und erreicht da 111,6% und 110,4%. Im normalen Zustande übt das Gehirn eine nur geringe diastatische Wirkung aus, bei der Intoxikation mit Diphtheriegift zeigt es aber eine starke diastatische Aktivität.

Dritte Gruppe — Tiere mit chronischer Vergiftung. Die Diphtherietoxinwirkung äußert sich folgendermaßen:

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1189,3	1510,6	1272,0	1213,3	360,0
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses .	+ 17,1	+ 34,5	+ 43,8	+ 141,8	+ 18,8

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1820,0	2281,3	2216,0	1953,3	511,0
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses .	+ 11,5	+ 24,7	+ 67,2	+ 114,5	+ 13,4

Aus den angeführten Tabellen ist zu ersehen, daß die chronische Diphtherieintoxikation das diastatische Ferment aller untersuchten Organe im Sinne einer hochgradigen Steigerung beeinflußt.

Folgende Übersichtstabelle stellt Veränderungen in der Diastase der Organe aller drei Tiergruppen dar unter dem Einfluß der akuten, subakuten und chronischen Diphtherietoxinvergiftung:

Organe	% des Zuwachses bei akuter Vergiftung		% des Zuwachses bei subakuter Vergiftung		% des Zuwachses bei chronischer Vergiftung	
	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.
Leber	+ 4,7	+ 5,1	+ 8,8	+ 9,3	+ 17,1	+ 11,5
Nieren	+ 19,3	+ 12,1	+ 28,3	+ 11,4	+ 34,5	+ 24,7
Lungen . . .	+ 8,0	+ 8,4	+ 25,9	+ 26,0	+ 43,8	+ 67,2
Gehirn	+ 55,0	+ 46,7	+ 111,6	+ 110,4	+ 141,8	+ 114,5
Muskeln . . .	+ 4,5	+ 6,3	+ 15,2	+ 11,9	+ 18,8	+ 13,4

Diese Daten zeigen, wie mit der längeren Dauer der Diphtherieintoxikation die Kraft der diastatischen Energie immer in die Höhe geht. Diese Steigerung zeigt am stärksten das Gehirn: bei chronischer Vergiftung übertrifft das diastatische Vermögen fast um zweimal das normale. Der elektive Einfluß des Diphtherietoxins auf das Gehirn kann vielleicht durch die Affinität erklärt werden, welche zwischen dem Diphtherietoxin und Nerven-Hirngewebe besteht; wie bekannt, ist ja das Diphtherietoxin ein Nervengift und wird am ehesten und am stärksten an den Nervenapparat gebunden. Man erinnere sich nur an die Bilder der Nerven- und Nervenzellenparalyse, die durch das Diphtherietoxin hervorgerufen werden.

Nun gehen wir zur Katalase über. Die Zahlen stellen die Anzahl Gramme Wasserstoffsuperoxyd dar, die während einer bestimmten Zeit (für alle Organe außer dem Herz 15 Minuten; für das Herz 30 Minuten) zersetzt wurden.

Erste Gruppe — Tiere mit akuter Diphtherieintoxikation.

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt . .	99,239	60,809	39,542	9,146
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
% des Zuwachses	+ 28,6	+ 70,2	+ 132,6	+ 136,8

Die Tabelle zeigt, daß die akute Diphtherietoxinvergiftung eine hochgradige Steigerung der Funktion der Katalase herbeiführt.

Die zweite Gruppe der Tiere wurde subakut vergiftet. Die Resultate dieser länger dauernden Vergiftung äußern sich an der Funktion der Katalase in den Tierorganen folgendermaßen:

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt . .	38,966	39,385	35,683	6,540
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
Differenz in % .	— 49,4	+ 10,2	+ 109,9	+ 69,3

Die Tabelle läßt erkennen, daß die subakute Diphtherieintoxikation die Katalase verschiedener Organe in ungleicher Weise beeinflußt. In der Leber ist ein steiles Absinken der Kraft der Katalase zu bemerken, im Vergleich zur Norm beinahe auf die Hälfte. In den Nieren ist die Wirksamkeit der Katalase etwas stärker als in der Norm, aber doch viel schwächer als bei der akuten Vergiftung. In der Leber und im Herzen ist die Aktivität der Katalase weit größer als in der Norm, doch aber etwas schwächer als bei der akuten Vergiftung. Im allgemeinen bewirkt die subakute Vergiftung keine so energische Steigerung der Aktivität der Katalase wie die akute Vergiftung.

Chronische Vergiftung:

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt . .	36,295	36,255	36,295	6,690
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
Differenz in % .	— 52,9	+ 1,4	+ 113,5	+ 73,3

Wir bringen noch eine Übersichtstabelle der Veränderungen der Katalase:

Organe	Differenz in % bei akuter Vergiftung	Differenz in % bei subakuter Vergiftung	Differenz in % bei chronischer Vergiftung
Leber	+ 28,6	— 49,4	— 52,9
Nieren	+ 70,2	+ 10,2	+ 1,4
Lungen . . .	+ 132,6	+ 109,9	+ 113,5
Herz	+ 136,8	+ 69,3	+ 73,3

Wir sehen, daß das Diphtherietoxin im allgemeinen eine Steigerung der „katalytischen" Energie in allen Organen außer der Leber herbeiführt, wo bloß die akute Vergiftung eine Steigerung der „katalytischen" Kraft zur Folge hat, die subakute und chronische hingegen mit einer beträchtlichen Herabsetzung einhergehen.

Fassen wir die allgemeinen Resultate zusammen, die wir bei der Untersuchung des Einflusses des Diphtherietoxins auf die fermentative Tätigkeit der Gewebe des Meerschweinchens erhalten haben, so ist zunächst zu verzeichnen, daß diese Wirkung an verschiedenen Fermenten in verschiedener Weise zutage tritt. Während die einen Fermente eine Herabsetzung ihrer Aktivität erkennen lassen, zeigen die anderen eine größere oder geringere Steigerung; außerdem wird ein und dasselbe

Ferment durch die akute, subakute und chronische Vergiftung in ungleicher Weise beeinflußt.

Die Lipase ist bei subakuter und chronischer Vergiftung in allen Organen außer dem Knochenmark beträchtlich abgeschwächt; bei akuter Vergiftung ist überall Steigerung zu beobachten. Das Knochenmark entfaltet bei allen Arten der Vergiftung eine verstärkte lipolytische Tätigkeit.

Die Kraft des amylolytischen und des diastatischen Fermentes wird unter dem Einfluß der Diphtherietoxinvergiftung beträchtlich gesteigert. Diese Steigerung ist um so intensiver, je länger die Vergiftung dauert.

Die Katalase erleidet in verschiedenen Organen ungleiche Veränderungen. An der Leber ist bei akuter Vergiftung eine Steigerung der Funktion, bei länger dauernder Vergiftung eine Herabsetzung wahrzunehmen. Die Nieren ergeben in allen Fällen eine geringe Steigerung. Das Herz und die Lungen weisen in allen Fällen eine hochgradige Steigerung auf. Interessant ist es, darauf hinzuweisen, daß Battelli und Stern bei der Untersuchung des Einflusses der Phosphorvergiftung auf die Katalase gleichfalls neben einer Verringerung derselben in der Leber eine Vermehrung in den übrigen Organen fanden.

Das Verhalten der fermentativen Funktion bei Tieren, die durch Tetanustoxin vergiftet wurden.

Zur Untersuchung der Wirkung des Tetanustoxins benutzten wir ein trockenes Toxin, das im hygienischen Laboratorium des Instituts für experimentelle Medizin nach Brieger gewonnen wurde. Aus diesem Toxin wurde nach Bedarf die erforderliche Verdünnung hergestellt, in der Mehrzahl der Fälle 0,0001 auf 1 ccm. Von dieser Lösung ausgehend stellten wir auch schwächere Verdünnungen her. Durch Prüfung an Mäusen überzeugten wir uns zunächst von der Aktivität des Toxins und vergifteten dann Meerschweinchen durch entsprechend veränderte Dosen. Es wurde bei den Meerschweinchen eine akute, subakute und chronische Vergiftung erzeugt. Das Toxin wurde in sterilem Wasser gelöst und dann mittels einer sterilen Spritze in die Bauchgegend subcutan eingespritzt. Im ganzen wurden durch Tetanustoxin 20 Tiere vergiftet.

Zur Untersuchung des Einflusses der akuten Vergiftung injizierten wir 5 Tieren folgende Mengen des reinen Tetanustoxins:

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung	Das Gewicht des Tieres am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g
34	0,00005	2	345	340
35	0,000075	2	320	316
36	0,0001	2	345	339
37	0,0001	1	345	342
50	0,0001	1	340	340

Die zweite Gruppe der Meerschweinchen wurde **subakut vergiftet.** Die Tiere standen unter dem Einfluß des Tetanustoxins 7 bis 13 Tage. Während dieser Periode bekamen sie eine ein- oder zweimalige Toxineinspritzung.

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge g	Das Gewicht des Tieres am Tage der ersten Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage der zweiten Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung
41	0,00001	380	—	385	8 (getötet)
42	0,0000175 und nach 7 Tagen 0,00003	397	422	405	13
43	0,00002 und nach 7 Tagen 0,00004	444	445	430	13
44	0,0000125 und nach 7 Tagen 0,00003	361	365	353	13
45	0,000015 und nach 7 Tagen 0,00003	395	415	405	13
46	0,000025 und nach 8 Tagen 0,00002	312	335	322	12
47	0,000025 und nach 8 Tagen 0,00002	307	330	320	12 (getötet)
48	0,000025 und nach 9 Tagen 0,00002	350	375	361	12
49	0,00003 und nach 9 Tagen 0,00003	355	380	368	12
54	0,00001 und nach 5 Tagen 0,0000075	355	358	353	7

Die dritte Gruppe der Tiere erlag einer dauerhaften Vergiftung, die 15 bis 21 Tage gedauert hat. Hierher gehören die Meerschweinchen Nr. 38, 39, 40, 55 und 60.

Nr. der Tiere	Die eingespritzte Toxinmenge g	Das Gewicht des Tieres am Tage d. ersten Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage d. zweit. Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage d. dritt. Einspritzung g	Das Gewicht des Tieres am Tage des Todes g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung
38	0,000005 nach 9 Tagen 0,000006 u. nach weit. 5 Tagen 0,00002	332	370	366	357	17 (getötet)
39	0,000005 nach 9 Tagen 0,000006 u. nach weit. 5 Tagen 0,000015	335	350	340	328	20
40	0,0000075 und nach 7 Tagen 0,00001	342	338	—	302	15
55	0,000005 nach 8 Tagen 0,0000075 u. nach weit. 6 Tagen 0,000015	350	360	352	334	20
60	0,000005 nach 8 Tagen 0,0000075 und nach 6 Tagen 0,00001	340	352	341	324	21

Wie aus der angeführten Tabelle ersichtlich ist, wurden diesen Tieren kleinere Toxinmengen als in den vorangehenden Fällen eingespritzt, die Einspritzungen wurden aber wiederholt gemacht.

Die fermentative Funktion wurde nach denselben Methoden untersucht, wie sie oben dargelegt wurden.

Lipase.

Erste Gruppe — akut durch Tetanustoxin vergiftete Tiere.

Wirkungsdauer des Fermentes: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	19,2	64,8	87,6	224,4	160,8	76,8	141,6
Norm	8,4	54,6	93,2	219,4	162,6	70,8	144,6
Differenz in %	+ 128,6	+ 18,6	— 6,0	+ 2,4	— 1,1	+ 8,4	— 2,1

Wirkungsdauer desselben Fermentes: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	38,4	128,4	157,2	372,0	229,2	444,0	216,0
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,9	229,8
Differenz in %	+ 100	+ 10,8	— 2,2	+ 0,9	— 0,5	+ 6,2	+ 6,0

Aus diesen 2 Tabellen ist zu ersehen, daß die akute Vergiftung mit Tetanustoxin, die in 1 bis 2 Tagen zum Tode führt, keine merklichen Schwankungen im Verhalten der fermentativen lipolytischen Funktion der meisten Organe herbeiführt.

Zweite Gruppe — Tiere mit subakuter Intoxikation.

Wirkungsdauer der Lipase: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	18,6	61,2	72,6	193,2	155,4	79,2	140,4
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in %	+ 121,4	+ 12,0	— 22,1	— 11,7	— 4,4	+ 11,8	— 2,9

Wirkungsdauer desselben Fermentes: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	37,2	124,8	138,6	321,2	206,4	150,0	214,8
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in %	+ 93,7	+ 7,7	— 13,8	— 12,9	— 10,4	+ 10,6	— 6,5

Die obigen Tabellen zeigen, daß bei der subchronischen Tetanustoxinvergiftung ein ungleicher Einfluß des Toxins auf die fermentative Energie verschiedener Organe bestehen bleibt. Das Knochenmark, die Muskeln und das Gehirn zeigen dabei eine Steigerung der fermentativen lipolytischen Funktion; in allen übrigen Organen ist aber eine recht merkliche Abschwächung der Lipase zu bemerken. An der Leber z. B. bemerkt man im Vergleiche zur akuten Vergiftung, wo sogar eine geringe Steigerng der lipolytischen Funktion zutage trat, eine Ablenkung im Sinne der Schwächung.

Das Verhalten der Lipase bei chronischer Vergiftung.

Wirkungsdauer des Fermentes: 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	18,0	63,6	63,6	192,0	157,2	81,6	126,0
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in %	+ 114,2	+ 16,4	— 31,7	— 12,3	— 3,3	+ 15,2	— 12,8

Wirkungsdauer des Fermentes: 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	38,4	129,6	138,0	297,6	199,2	152,4	206,4
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in %	+ 100	+ 11,9	— 14,1	— 19,1	— 13,5	+ 12,3	— 10,1

Die obigen Daten zeigen, daß auch bei chronischer Vergiftung eine Steigerung der lipolytischen Energie im Knochenmark, in den Muskeln und Gehirn bestehen bleibt; im Gehirn und in den Muskeln in etwas höherem Grade sogar als bei der subchronischen Vergiftung. In der Leber, im Herz und Lungen ist die Wirksamkeit der Lipase schwächer als bei der subchronischen Vergiftung, in den Nieren aber fast eine ebensolche wie bei der subchronischen Vergiftung.

Die Vergiftung mit Tetanustoxin beeinflußt somit die lipolytische Kraft verschiedener Organe in verschiedener Weise. Im Knochenmark, Muskeln und Gehirn verursacht sie eine beträchtliche Steigerung sowohl bei akuter als auch subchronischer Intoxikation. Die akute Intoxikation bleibt in den anderen Organen fast ohne Einfluß, die subakute und chronische bewirken eine Abschwächung der lipolytischen Energie, die um so größer ist, je länger die Intoxikation gedauert hat.

Die folgende Tabelle stellt Veränderungen der lipolytischen Energie im Vergleich zur Norm dar, unter dem Einfluß der akuten, subchronischen und chronischen Intoxikation durch Tetanustoxin.

Organe	Differenz in % bei akuter Vergiftung		Differenz in % bei subchronischer Vergiftung		Differenz in % bei chronischer Vergiftung	
	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.
Knochenmark	+ 128,6	+ 100,0	+ 121,4	+ 93,7	+ 114,2	+ 100,0
Muskeln . .	+ 18,6	+ 10,8	+ 12,0	+ 7,7	+ 16,4	+ 11,9
Herz	— 6	— 2,2	— 22,1	— 13,8	— 31,7	— 14,1
Leber . . .	+ 2,4	+ 0,9	— 11,7	— 12,9	— 12,3	— 19,1
Nieren . . .	— 1,1	— 0,5	— 4,4	— 10,4	— 3,3	— 13,5
Gehirn . . .	+ 8,4	+ 6,2	+ 11,8	+ 10,6	+ 15,2	+ 12,6
Lungen . .	— 2,1	— 6,0	— 2,9	— 6,5	— 12,8	— 10,3

Von Interesse ist das eigentümliche Verhalten des Tetanustoxins zum Gehirn und zu den Muskeln im Vergleich zu den anderen Organen. Das Tetanusgift hat, wie bekannt, eine besondere Affinität zum Nervenmuskelapparat. Das Tetanustoxin ist ein Krampfgift und die Muskulatur gelangt bei der Tetanusvergiftung in einen Zustand des Krampfes mit tetanischer Kontraktion. Es ist deshalb interessant zu betonen, daß die lipolytische Energie, wenn man vom Knochenmark absieht, im Gehirn und in den Muskeln gesteigert erschien, in den anderen Organen aber abgeschwächt.

Gehen wir nun zur Untersuchung des Einflusses des Tetanustoxins auf die amylolytische Tätigkeit der Gewebsenzyme über.

Erste Tiergruppe — akute Intoxikation: Bei der Untersuchung erhielten wir folgende Resultate:

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	3888,2	4166,0	5555,0	4999,4	933,2
Norm	3818,8	3957,7	5346,7	4791,4	916,5
% des Zuwachses	+ 1,8	+ 5,2	+ 3,9	+ 4,3	+ 1,8

Aus dieser Tabelle ist zu sehen, daß die amylolytische Tätigkeit bei akuter Tetanustoxinvergiftung in normalen Grenzen bleibt und bloß geringfügige Veränderungen im Sinne der Steigerung zeigt.

Subakute Intoxikation. Die amylolytische Energie drückt sich in folgenden Zahlen aus:

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnittszahl .	5485,5	6666,2	7499,6	9166,3	1583,0
Norm	3818,8	3957,7	5346,7	4791,1	916,5
% des Zuwachses	+ 43,6	+ 68,4	+ 40,2	+ 89,4	+ 72,7

Die Tabelle zeigt, daß die subakute Tetanustoxinvergiftung eine beträchtliche Steigerung der amylolytischen Energie in allen untersuchten Organen herbeiführt.

Die letzte Tiergruppe — mit chronischer Vergiftung — ergab in bezug auf das Verhalten der amylolytischen Energie folgende Resultate:

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	5832,8	6666,2	7499,6	9999,6	1749,6
Norm	3818,8	3957,7	5346,7	4791,1	916,5
% des Zuwachses	+ 52,7	+ 68,4	+ 40,2	+ 108,7	+ 90,9

Im folgenden bringen wir auch eine Übersichtstabelle der Veränderungen des amylolytischen Fermentes:

Organe	Akute Vergiftung % des Zuwachses	Subchronische Vergiftung % des Zuwachses	Chronische Vergiftung % des Zuwachses
Leber	+ 1,8	+ 43,6	+ 52,7
Nieren	+ 5,2	+ 68,4	+ 68,4
Lungen . . .	+ 3,9	+ 40,2	+ 40,2
Gehirn	+ 4,3	+ 89,4	+ 108,7
Muskeln . . .	+ 1,8	+ 72,7	+ 90,9

Aus den angeführten Daten ist zu ersehen, daß die amylolytische Funktion unter dem Einfluß des Tetanustoxins fast in allen Organen gesteigert wird. Diese Steigerung ist im Gehirn und in den Muskeln besonders beträchtlich. Im Gehirn, in den Muskeln und in der Leber schreitet diese Steigerung mit der Dauer der Intoxikation fort. Eine besonders hochgradige Steigerung im Gehirn und in den Muskeln steht vielleicht im Zusammenhang mit der besonderen Affinität des Tetanustoxins zum Nervenmuskelsystem, in dem Erscheinungen gesteigerter Arbeit und Krämpfe zur Entwicklung gelangen.

Nun kommen wir zu den Resultaten der Untersuchung der gesamten diastatischen Energie.

Erste Tiergruppe — Akute Vergiftung.

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1164,8	1424,0	947,2	947,2	404,4
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses	+ 14,6	+ 26,8	+ 7,0	+ 88,8	+ 33,4

Wirkungsdauer des diastatischen Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1801,6	2188,8	1393,6	1631,2	566,4
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses	+ 10,4	+ 19,5	+ 5,1	+ 79,1	+ 25,7

Die obigen Tabellen zeigen, daß fast in allen Organen bei der akuten Tetanustoxinvergiftung eine Steigerung der diastatischen Wirkung beobachtet wird. Besonders scharf tritt diese Steigerung im Gehirn hervor (88,8 und 79,1%), dann folgen die Muskeln, Nieren, Leber und Lungen.

Subakute Tetanustoxinvergiftung.

Wirkungsdauer des Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1169,6	1592,0	1086,4	1091,2	476,4
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses	+ 15,1	+ 41,8	+ 22,7	+ 117,3	+ 57,2

Wirkungsdauer des Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1850,4	2357,6	1591,6	2000,8	684,0
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses	+ 13,4	+ 28,8	+ 20,1	+ 119,9	+ 51,9

Aus den angeführten Zahlen ist zu entnehmen, daß die subakute Vergiftung eine noch größere Steigerung der diastatischen Energie herbeiführt.

Dritte Gruppe der Tiere, bei denen eine chronische Vergiftung erzeugt wurde, ergab folgende Resultate:

Wirkungsdauer des Fermentes: 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1140,8	1612,8	1080,0	1326,4	474,0
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses	+ 12,2	+ 43,7	+ 22,0	+ 164,4	+ 56,4

Wirkungsdauer des Fermentes: 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1857,6	2516,8	1649,6	1995,2	675,6
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses	+ 13,8	+ 37,5	+ 24,4	+ 119,1	+ 50,0

Die unten folgende Tabelle gibt eine Übersicht über alle Resultate der Untersuchung des Verhaltens der Diastase bei Tetanusvergiftung:

Organe	% des Zuwachses bei akuter Vergiftung		% des Zuwachses bei subakuter Vergiftung		% des Zuwachses bei chronischer Vergiftung	
	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.
Leber .	+ 14,6	+ 10,4	+ 15,1	+ 13,4	+ 12,2	+ 13,8
Nieren .	+ 26,8	+ 19,5	+ 41,8	+ 22,8	+ 43,7	+ 37,5
Lungen .	+ 7,0	+ 5,1	+ 22,7	+ 20,1	+ 22,0	+ 24,4
Gehirn .	+ 88,8	+ 79,1	+ 117,3	+ 119,9	+ 164,4	+ 119,1
Muskeln .	+ 33,4	+ 25,7	+ 57,2	+ 51,9	+ 56,4	+ 50,0

Im allgemeinen sehen wir, daß das Tetanusgift eine Steigerung der diastatischen Energie verursacht. Diese Steigerung ist für die Mehrzahl der Organe bei der akuten Vergiftung am beträchtlichsten; bei länger dauernder Vergiftung ist sie entweder ebenso groß oder etwas kleiner; für die Nieren und das Gehirn ist sie aber bei chronischer Vergiftung am größten. Von allen Organen ist die Vermehrung der diastatischen Energie am schärfsten im Gehirn ausgeprägt, wie dies auch bei der Diphtherietoxinvergiftung beobachtet wird.

Nun gehen wir zur Untersuchung des Einflusses des Tetanustoxins auf die Katalase über.

Erste Gruppe — akut vergiftete Tiere.

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt	97,199	55,324	37,414	8,339
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
% des Zuwachses	+ 25,8	+ 54,6	+ 120,0	+ 110,7

Eine akute Vergiftung mit Tetanustoxin ruft somit eine beträchtliche Steigerung der „katalytischen" Funktion in allen Organen hervor.

Die zweite Tiergruppe mit subakuter Vergiftung ergab folgende Resultate:

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt	129,400	75,384	42,436	8,562
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
% des Zuwachses	+ 67,7	+ 111,2	+ 149,6	+ 121,7

Aus dieser Tabelle folgt, daß die Verstärkung der Katalase bei subakuter Vergiftung mit Tetanustoxin noch beträchtlicher ausfällt. Besonders scharf ist sie ausgeprägt in den Lungen, Herz und Nieren.

Die chronische Vergiftung gibt folgende Resultate:

	Leber	Nieren	Lungen	Herz
Durchschnitt	118,186	75,813	44,764	9,472
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862
% des Zuwachses	+ 53,1	+ 112,2	+ 163,2	+ 145,3

Wir sehen, daß in allen Organen außer der Leber eine noch stärkere Steigerung der Funktion der Katalase als bei der subakuten Vergiftung beobachtet wird. In der Leber ist die „katalytische" Tätigkeit viel stärker als in der Norm, aber schwächer als bei der subakuten Vergiftung.

Angesichts einer so wesentlichen Verstärkung der Katalase in allen untersuchten Organen und auch angesichts des Krampfzustandes, in den mit Tetanustoxin vergiftete Tiere geraten, untersuchten wir bei der Tetanusintoxikation auch die Katalase der Muskeln. Das normale Muskelgewebe zersetzt äußerst geringe Wasserstoffsuperoxydmengen. Um meßbare Daten zu erhalten muß man Extrakte anfertigen aus einer größeren Menge Muskeltrockensubstanz. Wir bereiteten deshalb Extrakte nicht

aus 0,01 wie bei allen untersuchten Organen, sondern aus 0,05 auf 20 ccm Wasser. Die Mischungen der Extrakte mit Wasserstoffsuperoxyd stellten wir in den Thermostat auf 1 Stunde. Die unten angeführten Zahlen stellen die Resultate der Untersuchung der Katalase normaler Muskel dar.

Nr. des Tieres	Anzahl der durch 1 g Organtrockensubstanz zersetzten Gramme H_2O_2	Nr. des Tieres	Anzahl der durch 1 g Organtrockensubstanz zersetzten Gramme H_2O_2
1	4,080	6	4,080
2	1,020	7	1,020
3	3,196	8	2,516
4	1,764	9	2,312
5	7,140	10	4,896
		Durchschnitt	3,002

Wir sehen, daß die durch 1 g trockenes Muskelgewebe zersetzte Wasserstoffsuperoxydmenge bloß 3 g ausmacht.

Die Vergiftung mit Tetanusgift ruft im Verhalten der Muskelkatalase folgende Veränderungen hervor:

Resultate der Untersuchung der Muskulatur bei mit Tetanustoxin vergifteten Tieren.

	Akute Vergiftung	Subakute Vergiftung	Chronische Vergiftung
	2,176	18,360	25,296
	6,460	10,200	34,000
	6,120	13,260	29,920
	4,480	21,420	21,420
	6,460	21,420	29,920
	—	13,600	—
	—	11,900	—
	—	15,300	—
	—	12,500	—
	—	10,880	—
Durchschnitt . .	5139,000	14,884	28,111
Norm	3,002	3,002	3,002
% des Zuwachses	+ 71,2	+ 395,8	+ 836,3

Wir sehen, daß die katalytische Funktion bei Tieren, die durch Tetanustoxin vergiftet wurden, hochgradigst gesteigert ist und die Norm mehrmals übertrifft.

Die folgende Tabelle stellt die Veränderungen der Katalase in allen untersuchten Organen bei allen Arten der Tetanustoxinvergiftung dar.

Organe	Akute Vergiftung % des Zuwachses	Subakute Vergiftung % des Zuwachses	Chronische Vergiftung % des Zuwachses
Leber	+ 25,8	+ 67,7	+ 53,1
Nieren	+ 54,6	+ 111,2	+ 112,2
Lungen	+ 120,0	+ 149,6	+ 163,2
Herz	+ 110,7	+ 121,7	+ 145,3
Muskeln	+ 71,2	+ 395,8	+ 836,3

Die fermentative Tätigkeit der Katalase wird somit um so stärker, je länger die Vergiftung dauert.

Bei der Betrachtung des Einflusses, den die Vergiftung mit Tetanustoxin auf alle Fermente ausübt, sehen wir, daß im allgemeinen eine Verstärkung der „amylolytischen", „diastatischen" und „katalytischen" Wirkung sich bemerkbar macht. Die Verstärkung der Wirksamkeit dieser Fermente steigt in vielen Organen mit der Dauer der Vergiftung an. Was die Lipase anlangt, so ist ihre Wirksamkeit bloß im Knochenmark, in den Muskeln und im Gehirn gesteigert, in den übrigen Organen befindet sie sich entweder in normalen Grenzen oder ist auch abgeschwächt.

Das Verhalten der fermentativen Funktion der Gewebe bei Tieren, die durch Dysenterietoxin vergiftet wurden.

Außer Versuchen mit Diphtherie- und Tetanustoxin vergifteten wir 10 Meerschweinchen mit Dysenterietoxin verschiedener Stärke. Wir erhielten dieses Toxin, welches mittels Bac. Tschige-Cruse erhalten wurde, ebenfalls aus dem hygienischen Laboratorium des Institutes für experimentelle Medizin. Wir spritzten das unverdünnte Toxin den Tieren subcutan ein, und zwar in das Unterhautzellgewebe des Bauches. Da das Dysenterietoxin keine starke Wirkung auf Meerschweinchen ausübt, mußten wir wiederholt recht beträchtliche Toxinmengen einspritzen. Aus dem gleichen Grunde konnten die Tiere nicht akut vergiftet werden, sondern bloß subchronisch und chronisch.

Eine Tiergruppe erlag einer Vergiftung, die 7 bis 11 Tage gedauert hat. Hierher gehören die Meerschweinchen Nr. 52, 53, 57, 59 und 61. Diesen Tieren wurden folgende Toxinmengen eingespritzt:

Nr. der Tiere	Eingespritzte Toxinmengen	Das Gewicht der Tiere am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht der Tiere am Tage des Todes g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung
52[1])	1. 10 ccm nach 2 Tagen	340		
	2. 1 ccm nach 2 Tagen	335		
	3. 1 ccm nach 3 Tagen	315		
	4. 3 ccm	270	260	11 (getötet)
53	12 ccm	353	262	10 (getötet)
57	1. 5 ccm nach 3 Tagen	330		
	2. 3 ccm	285	217	8
59	5 ccm	302	210	7
61	1. 2,5 ccm nach 5 Tagen	335		
	2. 3 ccm nach 2 Tagen	324		
	3. 2 ccm und nach 2 Tagen	320		
	4. 2 ccm	295	267	11

Die zweite Tiergruppe erlag einer länger dauernden Vergiftung: die Meerschweinchen erhielten wiederholte Einspritzungen und standen unter dem Einflusse des Dysenterietoxins 14 bis 36 Tage.

Es wurden folgende Mengen Diphtherietoxin den Meerschweinchen eingespritzt:

Nr. der Tiere	Eingespritzte Toxinmengen	Das Gewicht der Tiere am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht der Tiere am Tage des Todes g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung
51[2])	1. 6 ccm nach 4 Tagen	453		
	2. 6 ccm nach 2 Tagen	445		
	3. 2 ccm nach 3 Tagen	440		
	4. 4 ccm nach 3 Tagen	421		

[1]) Das Meerschweinchen Nr. 52 erhielt das Dysenterietoxin aus einer anderen Portion als die anderen Tiere.

[2]) Das Meerschweinchen Nr. 51 erhielt dasselbe Toxin wie Nr. 52.

(Fortsetzung vorhergehender Tabelle.)

Nr. der Tiere	Eingespritzte Toxinmengen	Das Gewicht der Tiere am Tage der Einspritzung g	Das Gewicht der Tiere am Tage des Todes g	Zahl der Lebenstage nach der Einspritzung
51[1])	5. 3 ccm nach 8 Tagen	415		
	6. 2 ccm nach 3 Tagen	400		
	7. 2 ccm	380	362	36
56	1. 5 ccm nach 3 Tagen	338		
	2. 3 ccm	310	262	12
58	1. 5 ccm nach 3 Tagen	302		
	2. 3 ccm	268	200	14
62	1. 5 ccm nach 5 Tagen	400		
	2. 2 ccm nach 5 Tagen	349		
	3. 1,5 ccm nach 2 Tagen	320		
	4. 1 ccm	305	270	14
63	1. 5 ccm und nach 7 Tagen	410		
	2. 2 ccm und nach 2 Tagen	355		
	3. 2 ccm	330	255	16

Lipolytische Energie:

Erste Gruppe: Subakut vergiftete Tiere.

Wirkungsdauer des Fermentes 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	21,6	43,2	73,2	183,6	150,0	62,4	114,0
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in %	+ 157,1	− 20,9	− 21,4	− 16,6	− 7,7	− 11,8	− 21,1

Wirkungsdauer des Fermentes 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	52,8	90,0	145,2	312,0	210,8	133,2	205,2
Norm	19,2	115,8	160,8	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in %	+ 175,0	− 22,2	− 9,7	− 15,3	− 8,5	− 1,7	− 10,7

[1]) Siehe Fußnote 2 S. 207.

Die angeführten Angaben zeigen, daß außer dem Knochenmark, das eine beträchtliche Steigerung der lipolytischen Energie erkennen läßt, alle anderen Organe eine mehr oder weniger große Abschwächung ergeben. Diese Abschwächung ist besonders in den Muskeln, der Leber und in den Lungen ausgeprägt. Das Verhalten der lipolytischen Energie bei Vergiftung mit Dysenterietoxin ist analog mit dem Verhalten der Lipase bei Diphtherietoxinvergiftung; auch dort beobachten wir eine Herabsetzung der lipolytischen Kraft in allen Organen außer Knochenmark.

Bei der folgenden Tiergruppe wurde eine noch länger dauernde Vergiftung erzeugt, und zwar von der Dauer von 14 bis 36 Tagen.

Die lipolytische Energie äußert sich in folgenden Zahlen:

Wirkungsdauer des Fermentes 4 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	16,8	45,6	64,8	175,2	156,0	51,6	103,2
Norm	8,4	54,6	93,2	219,0	162,6	70,8	144,6
Differenz in %	+ 100,0	– 16,4	– 30,4	– 20,0	– 4,0	– 27,1	– 28,6

Wirkungsdauer desselben Fermentes 24 Stunden.

	Knochenmark	Muskeln	Herz	Leber	Nieren	Gehirn	Lungen
Durchschnitt .	46,8	102,0	128,4	291,6	215,6	112,8	204,0
Norm	19,2	115,8	160,4	368,6	230,4	135,6	229,8
Differenz in %	+ 143,8	– 11,9	– 20,1	– 20,9	– 6,4	– 16,8	– 11,2

Auch in den Geweben dieser Tiergruppe tritt eine Abschwächung der lipolytischen Energie hervor.

Die folgende Tabelle stellt Veränderungen der Lipase dar bei subchronischer und chronischer Vergiftung durch Dysenterietoxin.

Organe	Differenz in % bei subchronischer Vergiftung		Differenz in % bei chronischer Vergiftung	
	4 Std.	24 Std.	4 Std.	24 Std.
Knochenmark .	+ 157,1	+ 175,0	+ 100,0	+ 143,8
Muskeln . . .	– 20,9	– 22,2	– 16,4	– 11,9
Herz	– 21,4	– 9,7	– 30,4	– 20,1
Leber	– 16,6	– 15,3	– 20,0	– 20,9
Nieren	– 7,7	– 8,5	– 4,0	– 6,4
Gehirn	– 11,8	– 1,7	– 27,1	– 16,8
Lungen	– 21,1	– 10,7	– 28,6	– 11,2

Das Dysenterietoxin führt somit eine Verminderung der lipolytischen Energie in der Mehrzahl der Organe herbei, und zwar ergeben die sub-

chronische und chronische Vergiftung im allgemeinen annähernd gleiche Resultate.

Amylolytische Funktion.

Erste Gruppe: Subchronisch vergiftete Tiere.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	9999,6	11666,2	9999,6	13332,8	1832,8
Norm	3818,8	3957,7	5346,7	4791,1	916,5
% des Zuwachses .	+ 161,8	+ 194,7	+ 87,0	+ 178,2	+ 100,0

Die Tabelle zeigt eine hochgradige Steigerung des amylolytischen Vermögens in allen Organen. Besonders scharf tritt diese Steigerung in der Leber, im Gehirn und in den Nieren hervor.

Zweite Tiergruppe.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	7221,6	9166,2	9999,6	9999,6	1749,6
Norm	3818,8	3957,7	5346,7	4791,1	916,5
% des Zuwachses .	+ 89,1	+ 131,6	+ 87,0	+ 108,7	+ 90,9

Auch diese Tiergruppe zeigt eine recht beträchtliche Steigerung der amylolytischen Energie, wenn auch in geringerem Grade als die vorige. Eine sehr dauerhafte Vergiftung mit Dysenterietoxin ruft somit keinen so steilen Anstieg hervor wie die subakute Vergiftung, wie dies aus der folgenden Tabelle zu ersehen ist.

Organe	% des Zuwachses bei subchronischer Vergiftung	% des Zuwachses bei chronischer Vergiftung
Leber	+ 161,8	+ 89,1
Nieren	+ 194,7	+ 131,6
Lungen	+ 87,0	+ 87,0
Gehirn	+ 178,2	+ 108,7
Muskeln	+ 100,0	+ 90,9

Die beträchtliche Steigerung der amylolytischen Energie bei Dysenterietoxinvergiftung übertrifft jene Vermehrung des amylolytischen Vermögens, die bei der Vergiftung mit Diphtherie- und Tetanustoxin zur Beobachtung kommt.

Nun gehen wir zur Untersuchung der gesamten diastatischen Energie über.

Die subchronische Vergiftung ergibt in der ersten Tiergruppe folgende Resultate.

Wirkungsdauer des Fermentes 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1260,8	1379,2	1028,8	889,6	574,8
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses .	+ 24,1	+ 22,8	+ 16,2	+ 77,3	+ 89,7

Wirkungsdauer desselben Fermentes 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1916,8	2150,4	1496,8	1482,4	842,4
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses .	+ 17,4	+ 17,4	+ 12,9	+ 62,8	+ 87,0

Wir sehen, daß bei der subchronischen Vergiftung mit Dysenterietoxin die diastatische Energie um ein geringes gesteigert ist. Die höchste Steigerung wird im Gehirn und in den Muskeln beobachtet.

Die chronische Vergiftung ergibt folgende Resultate.

Wirkungsdauer des Fermentes 24 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1132,8	1177,6	976,0	841,6	552,0
Norm	1016,0	1122,4	884,8	501,6	303,0
% des Zuwachses .	+ 11,4	+ 4,9	+ 10,3	+ 67,7	+ 82,1

Wirkungsdauer desselben Fermentes 48 Stunden.

	Leber	Nieren	Lungen	Gehirn	Muskeln
Durchschnitt . . .	1811,2	1940,8	1444,8	1448,0	774,0
Norm	1631,6	1830,4	1325,2	910,4	450,4
% des Zuwachses .	+ 11,0	+ 6,0	+ 9,0	+ 59,0	+ 71,8

Bei der Nebeneinanderstellung der Resultate der subchronischen und chronischen Vergiftung erhalten wir folgende Tabelle:

Organe	% des Zuwachses bei subakuter Vergiftung		% des Zuwachses bei chronischer Vergiftung	
	48 Std.	24 Std.	48 Std.	24 Std.
Leber	+ 24,1	+ 17,4	+ 11,4	+ 11,0
Nieren	+ 22,8	+ 17,4	+ 4,9	+ 6,0
Lungen	+ 16,2	+ 12,9	+ 10,3	+ 9,0
Gehirn	+ 77,3	+ 62,8	+ 67,7	+ 59,0
Muskeln . . .	+ 89,7	+ 87,0	+ 82,1	+ 71,8

Aus diesen Daten ist zu ersehen, daß die chronische Vergiftung mit Dysenterietoxin eine geringere Steigerung der diastatischen Energie als die subakute Vergiftung verursacht.

Untersuchung der Katalase.

Erste Gruppe — subakut vergiftete Tiere — ergab folgende Resultate:

	Leber	Nieren	Lungen	Herz	Muskeln
Durchschnitt . . .	116,838	58,616	38,270	7,133	16,322
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862	3,002
% des Zuwachses .	+ 51,4	+ 64,0	+ 125,1	+ 84,6	+ 443,7

Aus diesen Daten ist zu sehen, daß die Funktion der Katalase unter dem Einfluß des Dysenterietoxins hochgradig gesteigert ist.

Die chronische Vergiftung mit Dysenterietoxin führt folgende Veränderungen im Verhalten der Katalase herbei.

	Leber	Nieren	Lungen	Herz	Muskeln
Durchschnitt . . .	121,745	51,000	36,550	6,236	15,282
Norm	77,159	35,723	17,000	3,862	3,002
% des Zuwachses .	+ 57,7	+ 42,7	+ 115,0	+ 61,4	+ 409,1

Die folgende Tabelle erlaubt eine Übersicht der Resultate in beiden Tiergruppen.

Organe	% des Zuwachses bei subakuter Vergiftung	% des Zuwachses bei chronischer Vergiftung
Leber	+ 51,4	+ 57,7
Nieren	+ 64,0	+ 42,7
Lungen	+ 125,1	+ 115,0
Herz	+ 84,6	+ 61,4
Muskeln	+ 443,7	+ 409,1

Wir sehen, daß außer der Leber, in der die chronische Vergiftung eine etwas größere Steigerung hervorruft, die übrigen Organe bei der chronischen Vergiftung eine geringere Steigerung der fermentativen Energie der Katalase, als bei der subakuten Vergiftung erkennen lassen.

Fassen wir nun den Einfluß des Dysenterietoxins auf die fermentative Funktion der Gewebe zusammen, so kann man eine Ähnlichkeit mit der Wirkung des Diphtherietoxins feststellen. Die lypolytische Energie ist in allen Organen, außer Knochenmark, abgeschwächt. Die amylolytische und die diastatische Energie erscheinen gesteigert, wie dies auch bei der Diphtherie- und Tetanusvergiftung beobachtet wird. Die fermentative Energie der Katalase ist bei der Vergiftung mit Dysenterietoxin in allen Organen gesteigert, während das Diphtherietoxin die Katalase bloß im Herzen und in den Lungen verstärkt.

Auf Grund des gewonnenen Materials kommen wir zu folgenden Schlüssen:

Alle von uns verwendeten Toxine — Diphtherie-, Tetanus- und Dysenterietoxin rufen eine beträchtliche Veränderung in der Tätigkeit der Gewebsfermente hervor. Diese Veränderung besteht in dem einen Falle in einer Steigerung der fermentativen Funktion, in den anderen aber in ihrer Abschwächung. Diese Veränderungen hängen mit dem Grad und Dauer der Vergiftung zusammen; ein und dasselbe Toxin kann auf verschiedene Fermente eine verschiedene Wirkung ausüben. Bei konstantem Toxin und Ferment können die Veränderungen der fermentativen Energie in verschiedenen Organen nach verschiedenen Richtungen gehen.

Die lypolytische Energie ist unter dem Einfluß des Diphtherietoxins in allen Organen bei der akuten Intoxikation gesteigert; bei subakuter und chronischer Vergiftung ist sie in allen Organen, außer Knochenmark, abgeschwächt, in dem letzteren aber gesteigert. Das Tetanustoxin übt auf die Lipase in allen Organen eine geringe Wirkung aus im Sinne einer Abschwächung, außer Knochenmark, Muskeln und Gehirn, wo sie verstärkt ist. Das Dysenterietoxin wirkt auf die Lipase ebenso wie das Diphtherietoxin und vermindert ihre Energie in allen Organen außer Knochenmark. Daselbst ist aber die lypolytische Energie gesteigert.

Die amylolytische und die gesamte diastatische Funktion werden durch alle angewendeten Toxine gesteigert. Bei Vergiftung mit verschiedenen Toxinen kommt das in verschiedenem Grade zur Beobachtung. Die amylolytische Energie zeigt die höchste Steigerung bei Dysenterieintoxikation, dann bei Tetanusvergiftung. Die diastatische Energie ist am meisten gesteigert bei der tetanischen und diphtherischen Vergiftung.

Die Katalase erfährt die höchste Steigerung bei der tetanischen, dann bei Dysenterievergiftung. Eine Verstärkung der Katalase tritt in bezug auf das Herz und die Lungen auch bei der akuten diphtherischen Vergiftung hervor, während bei chronischer diphtherischer Intoxikation das Verhalten der Nierenkatalase im Vergleiche

zur Norm wenig verändert ist und die Leberkatalase sogar abgeschwächt erscheint.

Wir sehen also, daß die Toxine auf verschiedene fermentative Prozesse eine ungleiche Wirkung ausüben.

Andererseits muß aber betont werden, daß auch eine Ähnlichkeit in der Wirkung der Toxine auf ein und dasselbe Ferment sich erkennen läßt. So steigern z. B. alle Toxine im höheren oder geringerem Grade die amylolytische und die diastatische Energie. Ähnlich ist auch die Wirkung des Diphtherie- und Dysenterietoxins auf die Lipase. Die Funktion der Katalase ist, mit einer gewissen Ausnahme, unter dem Einfluß aller Toxine gesteigert. Die Intoxikation mit verschiedenen Giften hat somit in bezug auf ein und dasselbe Ferment bis zum gewissen Grade gleichartige Resultate zur Folge.

Über die Wirkungsweise der Phosphatese.

III. Mitteilung.

Von

Hans Euler.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Universität Stockholm.)

(Eingegangen am 9. April 1912.)

Bevor ich einige Versuche über die Phosphatese mitteile, sehe ich mich veranlaßt, auf die bisherige Forschung über die enzymatische Phosphorsäurebindung näher einzugehen.

Daß in Hefen ein Phosphorsäureester synthetisierendes Enzym existiert, hat zuerst L. Iwanoff[1]) behauptet. Er wies nach, daß bei der Vergärung von Zucker durch Zymin oder Hefanol Phosphate in phosphororganische Verbindungen übergeführt werden, und sagt[2]): „Diese Überführung braucht nicht von Gärung begleitet zu sein, da es sich auch bei Zugabe von Phosphaten zum Filtrat vollzieht, das man nach Vergärung von Zucker durch Zymin oder Hefanol gewinnt."

Gegen diese Auffassung Iwanoffs haben sich Harden und Young[3]) auf Grund eigener Versuche gewandt. Die Einwände der englischen Forscher waren folgende:

1. Die Bildung von Hexosephosphat ist begleitet von einer alkoholischen Gärung, welche dem Betrag des gebildeten Hexosephosphats genau äquivalent ist, während nach Iwanoff die Bildung des Hexosephosphats der alkoholischen Gärung vorangehen und der Betrag der letzteren der Menge des gespaltenen Hexosephosphats proportional sein sollte.

2. Wenn die alkoholische Gärung in der Zersetzung des Hexosephosphats besteht, so sollte der erreichte Betrag von der Konzentration dieser Verbindung abhängen, und es gibt keine Erklärung für die beobachtete Tatsache, daß der Betrag schnell abnimmt, sobald das freie Phosphat verschwunden ist, obwohl in diesem Moment die Konzentration des Hexosephosphats am höchsten ist.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 281, 1907.

[2]) Centralbl. f. Bakt. (II. Abt.) **24**, 1, 1909.

[3]) Ibid. **26**, 178, 1910.

In bezug auf die eingangs erwähnte Behauptung Iwanoffs, daß die Bildung der Phosphorsäureester nicht von der Gärung abhängig ist, sagen die englischen Forscher[1]):

„An examination of the experimental evidence adduced in support of this statement, however shows, that although Iwanoff proved that the filtrate from a mixture of zymin, cane sugar and water was capable of converting phosphate into hexosephosphate, he did not show that this same filtrate was incapable of producing alcoholic fermentation.

In order to ascertain the properties of a filtrate prepared in this way the following experiment, based on that of Iwanoff was made:

Exper. 3. 15 g zymin (from top yeast) + 7,5 g cane sugar + 75 ccm water + toluene were allowed to stand at 15° for 24 hours. The liquid was centrifuged and filtered and to the clear filtrate 20 ccm of 9 per cent sodium phosphate solution were added. The whole was then saturated with carbon dioxide and maintained at air temperature in presence of toluene. A vigorous fermentation set in, 56,7 ccm of gas being evolved in 20 hours."

Gegenüber diesen Versuchen von Harden und Young hat sich Iwanoff nicht mehr geäußert.

In den hierauf bezüglichen Arbeiten von Euler und Kullberg[2]) sowie Euler und Ohlsén[3]) werden nun zwei Tatsachen erwähnt, gegen welche die Einwände Hardens und Youngs nicht geltend gemacht werden können, nämlich:

1. Unter dem Einfluß von Extrakt aus Trockenhefe fand eine Veresterung der **reinen** Glucose nicht statt, während angegorene Glucose, d. h. solche, welche mit lebender Hefe vorbehandelt wurde, der Veresterung unterliegt.

Die Versuchsbedingungen wurden hinsichtlich der Zusammensetzung des Mediums variiert, und die Ergebnisse waren die folgenden:

I. (Euler und Kullberg).

Minuten	Gramm $Mg_2P_2O_7$ in 10 ccm: Reine Glucose 1.	2.	3.	Vorbehandelte Glucose
2	0,0935	0,0782	0,0520	0,0794
120	—	0,0784	—	—
328	—	0,0783	—	0,0000
840	0,0931	—	0,0475	0,0000

[1]) l. c., S. 181.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 15, 1911.

[3]) Diese Zeitschr. 37, 313, 1911.

II. (Euler und Ohlsén).

Minuten	Gramm $Mg_2P_2O_7$ Reine Glucose	Vorbehandelte Glucose
0	0,0398	0,0398
150	0,0394	0,0210
250	0,0394	0,0000

Aus diesen Versuchen geht also hervor, daß der Extrakt der Trockenhefe, welcher das veresternde Enzym enthielt, frei oder fast frei von Zymase war. Andernfalls würde ja die Zymase dieses Extraktes imstande gewesen sein, eine Angärung der Hefe hervorzurufen, oder mit anderen Worten: die Glucose in denjenigen Zustand zu versetzen, welcher durch die Vorbehandlung der Glucoselösung erreicht wird. Es liegt also schon in diesen Zahlen der Beweis, daß der Extrakt, welcher das veresternde Enzym enthielt und welcher sich in dieser Hinsicht sehr aktiv verhielt, keinerlei Vergärung hervorzurufen vermochte.

2. Während der enzymatischen Synthese der Phosphorsäureester durch unsere Hefe H tritt keine meßbare Kohlensäureentwicklung ein. Euler und Kullberg hatten dies bereits festgestellt, aber nicht eigens angegeben. In der Arbeit von Euler und Ohlsén findet man diese Tatsache dagegen ausdrücklich betont (S. 314).

Mit diesen zwei Tatsachen, besonders mit der ersteren, ist ein einwandfreier Beweis für die Existenz eines besonderen Phosphorsäureester synthetisierenden Enzyms erbracht worden.

In der erwähnten Arbeit von Euler und Kullberg wurde ferner zum ersten Male nachgewiesen, daß das genannte Enzym nicht reversibel wirkt, sondern daß ihm eine ausschließlich synthetisierende Wirkung zukommt.

Nachdem nun schon früher Harden und Young im Hefepreßsaft ein Phosphorsäureester spaltendes Enzym nachgewiesen und ihm den Namen Phosphatase gegeben hatten, schien mir für das entgegengesetzt wirkende, also Phosphorsäure bindende Enzym der Name Phosphatese der geeignetste.

Ein rein synthetisierendes Enzym war von Rosenthaler[1]) gefunden worden, und es scheint eine ganze Gruppe von derartigen Enzymen zu existieren. Der von Iwanoff für sein spezifisches Enzym vorgeschlagene Name schien mir sehr passend als Gruppenbezeichnung, und als „Syntheasen" wären demnach alle Enzyme zusammenzufassen, bei welchen nur eine synthetische Wirkung nachgewiesen ist. Ich freue mich, konstatieren zu können, daß ich mich in diesem Punkte in Übereinstimmung mit Herrn Prof. L. Iwanoff befinde, welchem man die ersten Versuche über Phosphorsäurebindung verdankt. Dieser Forscher hatte die Freundlichkeit, mir folgendes mitzuteilen:

„Was die Nomenklatur der Enzyme betrifft, kann ich vollständig beistimmen, daß der Name „Synthease" am besten als Gruppenbezeichnung (analog Diastasen Duclaux') gebraucht werden könnte. Der Vorschlag, die Silbe „ase" auf „ese" zu wechseln, löst die Aufgabe am einfachsten. Nur eins spricht nicht dafür: der Unterschied zwischen beiden Silben ist vielleicht nicht stark genug, um die Verwechslung beim Reden und Schreiben sicher zu vermeiden[2])."

Ich gehe nun zur Mitteilung einiger neuen Versuche betr. die Extraktionsfähigkeit der Phosphatese über. Dieselben wurden in der Weise ausgeführt, daß Mischungen von vorbehandelter Glucose und Phosphat teils durch Extrakt von Trockenhefe verestert wurden, teils durch Trockenhefe selbst.

Was die Versuche mit Extrakt anbetrifft, so entsprach die Methodik ganz derjenigen, welche in den früheren Arbeiten von Euler und Kullberg sowie von Euler und Ohlsén zur Anwendung gekommen war. Das freie Phosphat wurde als $Mg_2P_2O_7$ bestimmt; in den Tabellen ist die Anzahl Gramm $Mg_2P_2O_7$ per 10 ccm Mischung angegeben. Die Trocknung der Hefen geschah zwischen 20 und 25°; die Veresterung ging bei 18° vor sich.

---

[1]) Diese Zeitschr. **19**, 186, 1909 und **28**, 408, 1910.

[2]) Hierzu möchte Verf. bemerken, daß er die Gefahr von Verwechslungen für sehr gering hält. In der chemischen Nomenklatur haben ähnliche Namenbildungen keine Nachteile gehabt; es sei erinnert an Ketone und Ketene, Hexane und Hexene, Methanol und Methanal usw.

I. Oberhefe der Stockholmer (Bjurholms) Porterbrauerei.

Analysen von Herrn H. Ohlsén.

Vorbehandlung der 20%igen Glucoselösung: In 100 ccm wurden durch 10 g Preßhefe 65 ccm CO_2 entwickelt.

a) 10 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösg. + 20 ccm vorbeh. Glucoselösg. + 25 ccm Hefenextrakt,

b) 10 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösg. + 20 ccm vorbeh. Glucoselösg. + 25 ccm Hefenextrakt, 30 Min. auf 40° erwärmt.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g a	b
0	0,0567	0,0562
145	0,0562	0,0570
315	0,0563	0,0560
1200	0,0556	0,0554

Bei diesem Versuch wurden keine meßbaren Mengen CO_2 entwickelt.

Versuch mit der Trockenhefe.

20 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösg. + 40 ccm vorbeh. Glucoselösg. + 40 ccm H_2O + 8 g Trockenhefe.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g
0	0,0608
85	0,0400
226	0,0083

II. Oberhefe Rasse G der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.

Analysen von Herrn E. G. Thorin.

a) 10 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösg. + 20 ccm vorbeh. Glucoselösg. + 25 ccm Hefenextrakt,

b) 10 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösg. + 20 ccm vorbeh. Glucoselösg. + 25 ccm Hefenextrakt, 30 Min. auf 40° erwärmt.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g a	b
0	0,0619	0,0617
175	0,0601	0,0598
320	0,0562	0,0602

Bei diesem Versuch wurden keine meßbaren Mengen CO_2 entwickelt.

Versuch mit Trockenhefe.

5 ccm 5 %ige Na_2HPO_4-Lösg. + 10 ccm vorbeh. Glucoselösung + 10 ccm H_2O + 2 g Trockenhefe.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g
0	0,0542
75	0,0135
220	0,0104
300	0,0247

Wie man sieht, wird die anfänglich veresterte Phosphorsäure durch die Vergärung des Esters wieder freigemacht; daher kommt die Zunahme der Phosphorsäure nach 220 Minuten.

III. Unterhefe der Brauerei in Södertelge (Södermanland).

Analysen von Herrn D. Johansson.

a) 10 ccm 5 %ige Na_2HPO_4-Lösung + 20 ccm vorbeh. Glucoselösung + 25 ccm Hefenextrakt.

b) 10 ccm 5 %ige Na_2HPO_4-Lösung + 20 ccm vorbeh. Glucoselösung + 25 ccm Hefenextrakt, 30 Min. auf 40° erhitzt.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g	
	a	b
0	0,0519	0,0514
165	0,0515	0,0510
345	0,0517	0,0517
1200	0,0519	0,0520

12 ccm Hefenextrakt + 10 ccm vorbeh. Glucoselösung + 5 ccm Phosphatlösung wurden in einem mit Meißl-Ventil versehenen Kolben mit CO_2 gesättigt und gewogen:

Minuten	Gewicht g
0	95,6404
347	95,6400

Die Kohlensäureentwicklung während der Veresterung betrug also in obigem Versuch 0,0008 g während etwa 6 Stunden.

Versuch mit der Trockenhefe.

20 ccm 5 %ige Na_2HPO_4-Lösung + 40 ccm vorbeh. Glucoselösung + 40 ccm H_2O + 8 g Trockenhefe.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g	
	1.	2.
0	0,0588	0,0611
41	0,0088	0,0409
120	0,0146	—
240	0,0176	0,0010

Zum Vergleich haben wir die

Hefe H der St. Eriksbrauerei

nun auch als Trockenhefe zur Phosphorestersynthese verwendet.

20 ccm 5 $^0/_0$ige Na_2HPO_4-Lösung + 40 ccm vorbeh. Glucoselösung + 40 ccm H_2O + 8 g Trockenhefe.

Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in g 1.	2.
0	0,0598	0,0589
50	—	0,0198
105	0,0117	0,0102

Was an diesen Versuchen auffällt, ist der Umstand, daß vier Hefen, von welchen die eine (Hefe H) die Phosphatese sehr leicht bei der Extraktion abgibt, während die anderen einen ganz unwirksamen Extrakt liefern, die Phosphorsäure nahezu gleich schnell verestern, wenn sie sich nach der Trocknung selbst im Reaktionsgemisch befinden.

Vier Hefen von starkem Phosphatesegehalt lieferten also Extrakte von außerordentlich verschiedener Phosphatesewirkung.

Wir verfolgen diese Versuche in Rücksicht auf die vor einiger Zeit von H. Euler und Beth af Ugglas[1]) gefundene Beziehung zwischen der Extrahierbarkeit der Enzyme und ihrem Verhalten zu Protoplasmagiften.

Es erübrigt nun noch über eine kürzlich erschienene Notiz von Herrn von Lebedew[2]) einige Worte zu sagen. Dieser Autor schreibt:

„In meinen Bemerkungen[3]) zu der in der Zeitschr. f. physiol. Chem.[4]) veröffentlichten Arbeit von H. Euler und S. Kullberg habe ich darauf hingewiesen, daß ein durch 3$^1/_2$stündige Maceration von trockener Hefe in Zuckerlösung mit nachfolgender Filtration dargestellter Saft, wie ich früher gezeigt habe, gärungswirksam sein kann. Infolgedessen schienen mir die Angaben der oben genannten Autoren zweifelhaft, daß der auf diese Weise gewonnene Saft imstande sein solle, einen Phosphorsäureester zu synthetisieren, ohne daß eine gleichzeitige Vergärung stattfände."

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **70**, 279, 1911; vgl. auch ibid. **73**, 85, 1911.

[2]) Diese Zeitschr. **39**, 155, 1912.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 499, 1911.

[4]) Ibid. **74**, 15, 1911.

Jetzt finden nun Euler und Ohlsén[1]), daß die Fähigkeit zur Bildung von Phosphorsäureester ohne Kohlensäureentwicklung nicht jede Hefe besitzt, sondern nur solche, die schwach gärt und unwirksamen Saft liefert[2]). Zu diesem Zweck haben sie eine Rasse H der St. Eriksbrauerei in Stockholm herausgesucht."

Diese Darstellung steht mit den Angaben, welche in meinen und meiner Mitarbeiter Veröffentlichungen gemacht sind, nicht in Übereinstimmung. Weder nach und noch weniger auf Grund der Lebedewschen Notiz über Phosphatese in der Zeitschr. f. physiol. Chem. wurde die Hefe H zu unseren Versuchen „herausgesucht". Sie war, wie ausdrücklich erwähnt, in mehreren früheren Arbeiten bei den Versuchen von Euler und Kullberg[3]) zur Anwendung gekommen, und war überhaupt die erste Hefe, welche im hiesigen Laboratorium in bezug auf Phosphatese studiert wurde.

Diese Arbeit fortsetzend haben dann Euler und Ohlsén[1]) andere Hefen untersucht und es hat sich dabei gezeigt, daß ebenso wie im Extrakt der Münchener Hefe von Schroder auch in den Extrakten einer Reihe von Hefen aus Stockholmer Brauereien neben der Phosphorestersynthese auch Gärung eintrat, was nach v. Lebedews eigenem Befund[4]) ja auch durchaus nicht auffallend war.

Es ist bezüglich der Worte: „Jetzt finden Euler und Ohlsén" usw. ferner festzustellen, daß die erwähnte Mitteilung von Euler und Ohlsén bei der Redaktion dieser Zeitschrift am 28. Oktober 1911 einlief, während die betreffende Notiz von Herrn v. Lebedew[5]) am 29. November 1911 in der Zeitschr. f. physiol. Chem. erschien. Obwohl ich mit dem Inhalt dieser Notiz keineswegs einverstanden bin, sah ich doch keinerlei Veranlassung auf dieselbe irgendwie einzugehen.

Noch weniger verständlich ist mir folgende Stelle in der letzten Notiz v. Lebedews[5]).

„Da mir leider diese Rasse (Hefe H der Stockholmer St. Eriksbrauerei) nicht zur Verfügung stand, so habe ich die bei Zimmertemperatur getrocknete Hefe der Brauerei Moritz in Paris zur Nachprüfung verwendet. Sie besaß nur eine mittlere Gärkraft und lieferte nach der Maceration in Wasser ohne Zucker einen unwirksamen Saft.

[1]) Diese Zeitschr. 37, 313, 1911.
[2]) l. c., S. 314.
[3]) Siehe Fußnote 4 S. 221.
[4]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc., séance du 3 Janvier 1911.
[5]) Diese Zeitschr. 39, 155, 1912.

Ich habe ihn mit einer 20°/₀igen Zuckerlösung gemischt, die zuvor mittels lebender Hefe soweit vergoren war, daß etwa 0,1 der theoretisch möglichen Kohlensäure entwickelt wurde. Dabei habe ich nun entgegen den Angaben von Euler und Ohlsén weder eine Gärung noch eine Esterbildung wahrnehmen können."

Man wird sich fragen, was die Mitteilung dieses Versuches in der genannten Notiz sagen soll.

Über die Extraktionsfähigkeit der Phosphatese liefert der Versuch keinen Aufschluß, da keinerlei Angaben gemacht sind, ob und wie schnell diese Hefe in getrocknetem Zustand die Phosphorsäureestersynthese vermittelt, wie groß also der Gehalt an diesem Enzym im Vergleich zu anderen Trockenhefen ist.

Über die selbstständige Existenz der Phosphatese würde der Versuch v. Lebedews nur insofern etwas aussagen, wenn der Autor auf Grund desselben schließen wollte, daß die Extraktionsfähigkeit der Zymase und der Phosphatese stets parallel geht, daß also die beiden Enzyme im Extrakt gleichzeitig auftreten oder verschwinden. Sollte v. Lebedew wirklich dieser Meinung sein, so kann er sich durch Untersuchung einer größeren Anzahl Hefen so leicht von der Unrichtigkeit derselben überzeugen, daß hier eine Diskussion der bereits vorliegenden Daten nicht notwendig erscheint.

Sollte der genannte Autor, was wahrscheinlicher ist, die obige Auffassung nicht haben, so ist die Bedeutung, die er seinem Versuch beimißt, noch weniger klar. Denn ebensowenig als die Tatsache, daß mehrere Stockholmer Hefen keine oder nur beschränkte Extraktion der Zymase gestatten mit dem Befund Lebedews, daß sich aus Münchner Hefe viel Zymase extrahieren läßt, in Widerspruch steht, ebensowenig kann es auffallend sein, daß eine Pariser Hefe existiert, aus welcher weder Zymase noch Phosphatese extrahiert werden kann. Die Extraktionsfähigkeit der Zymase variiert von Hefe zu Hefe, wofür v. Lebedew selbst Beispiele beigebracht hat[1]), und in nicht geringerem Grade variiert die Extraktionsfähigkeit der Phosphatese.

Die Deutung dieser Tatsachen scheint mir so einfach zu sein, daß ich meinerseits die Diskussion hierüber abschließe.

---

[1]) Annales de l'Inst. Pasteur 26, 8, 1912.

Über Stickstoffassimilation und Eiweißbildung in Pflanzenzellen.

Von

Oscar Loew (München).

(Eingegangen am 14. April 1912.)

Es sind schon vor geraumer Zeit Tatsachen bekannt geworden, welche keinen Zweifel mehr darüber aufkommen lassen, daß bei der Eiweißbildung in Pflanzenzellen sowohl Nitrate als Sulfate durch die Energie des lebenden Protoplasmas reduziert und assimiliert werden können ohne Mithilfe von Licht, im Gegensatz zur Assimilation von Kohlensäure, bei welcher bekanntlich die Energie des lebenden Protoplasmas im Chlorophyllkörper durch Lichtenergie unterstützt werden muß. Kürzlich hat nun O. Baudisch[1]) auf einer Beobachtung fußend, daß Kaliumnitrit und Methylalkohol bei Belichtung unter Bildung von Formhydroxamsäure aufeinander wirken, folgende physiologische Schlüsse gezogen:

1. daß die Assimilation von Nitraten in Pflanzenzellen ein von der Belichtung abhängiger Prozeß sei;

2. daß in den Zellen die Nitrate zuerst zu Nitrosyl (NOH) reduziert werden und dieses mit Formaldehyd Formhydroxamsäure liefere, welche das erste stickstoffhaltige Produkt in den Pflanzen darstelle;

3. daß, wenn Ammoniak zur Eiweißbildung diene, dieses zuerst durch oxydierende Enzyme zu Nitrosyl oxydiert werde, welches dann ebenfalls mit Formaldehyd reagiere[2]).

---

[1]) Centralbl. f. Bakt., II. Abt., **32**, 520, 1912.

[2]) Die weitere Hypothese, daß Dioxyacetonoxim eine physiologische Rolle bei der Bildung von Zuckerarten und Säuren spiele, wollen wir hier nicht berücksichtigen.

Was das Verhalten von Nitraten in Pflanzen betrifft, so habe ich vor kurzem physiologische Tatsachen aufgeführt, welche zeigen, daß weder Nitratreduktion noch Eiweißbildung lichtchemische Prozesse sind. Auf jene Mitteilung[1]) verweisend, mag hier nur erwähnt werden, daß ich schon vor langer Zeit mit Kulturen von Penicillium gezeigt habe[2]), daß diese Pilzrasen im Dunkeln ebenso schnell wachsen, also auch ebenso schnell ihr Eiweiß bilden können als im Lichte, wenn Glycerin als Kohlenstoffquelle und Natriumnitrat als Stickstoffquelle dargeboten werden. Die getrocknete Gesamternte an Pilzmasse in zwei belichteten Kolben betrug 0,936 g, in zwei Dunkelkolben 0,961 g. Da in denselben Versuchskolben Schwefel nur in der Form von Natrium- und Magnesiumsulfat vorhanden war, so folgt weiter aus diesem Versuche, daß auch die Reduktion von Sulfaten bei der Eiweißbildung ohne Mithilfe des Lichtes stattfindet, obwohl dieser Vorgang schwieriger ist, als die Reduktion von Nitraten.

Ich habe ferner im gleichen Jahre dargetan[3]), daß Nitrate im Dunkeln katalytisch (d. h. ohne nascierenden Wasserstoff) leicht zu Ammoniak reduziert werden, wenn sie mit Glucose und Platinmohr digeriert werden, und wies damals schon darauf hin, daß hiermit ein Vorgang in der lebenden Pflanzenzelle nachgeahmt sei. Die Nitrate geben hierbei ihren Sauerstoff an Glucose ab und die entstehenden Säuren nehmen die Basen der Nitrate auf, während der Stickstoff der Nitrate mit Wasserstoff aus der Glucose Ammoniak bildet. Nitrit als Zwischenstufe war hierbei nicht nachweisbar.

Daß auch die Zellen der chlorophyllführenden Pflanzen zu diesen Funktionen ohne Beihilfe von Licht befähigt sind und nicht nur die Pilze, darüber lassen die Studien von U. Susuki[4]), Ischizuka[5]), Zaleski, Frank und Godlewski keinen Zweifel mehr. Allerdings sind die Blätter bevorzugte Organe der Eiweißbildung, aber die Bedingungen hierfür sind in mehrfacher Beziehung weit günstiger als die in der Wurzel. Vor

[1]) Chem-Zeitg. **1912**, Nr. 7.
[2]) Biol. Centralbl. **10**, 383, 1890.
[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **23**, 3125.
[4]) Bull. College of Agriculture, Tokio, **3**, 493, 1898.
[5]) Ibid. **2**, 472.

allem kann die Respiration hier weit ausgiebiger erfolgen, weil die Struktur der Blätter den Sauerstoffzutritt zu allen Zellen mehr begünstigt als die Struktur der Wurzel. Eine Steigerung der Respiration bedeutet aber eine Steigerung der Betriebsenergie. Ferner ist die chemische Arbeit in den Blättern noch dadurch günstiger gestaltet wie in der Wurzel, weil die umgebende Luft gewöhnlich wärmer ist als der Boden. Schließlich steht in der Regel den Blättern immer im Lichte neugebildetes Kohlenhydrat als Reduktionsmaterial zur Verfügung, während der Wurzel das Kohlenhydratmaterial erst aus den Blättern zugeleitet werden muß. So kann es nicht wundernehmen, daß nicht nur die Nitrate aus besonnten Blättern weit rascher verschwinden als aus Stengel und Wurzel, sondern auch der ganze Prozeß der Eiweißbildung dort rascher verläuft als hier. Ein direkter fördernder Einfluß des Lichtes auf den Chemismus der Eiweißbildung selbst ist noch nicht erwiesen; indessen da bei Schimmelpilzen ein solcher Einfluß nicht besteht, dürfte das wohl auch für die Phanerogamen gelten.

Nitrite, deren Vorkommen in Pflanzen mehrfach bezweifelt worden ist, kommen nur hier und da in sehr geringen Spuren vor. Eine schwachrote Färbung mit dem Reagens von Gries kann noch mit weniger als ein Millionstel Teil Nitrit in einer Lösung erhalten werden. Auch im tierischen Speichel sind solche Spuren gefunden worden. Niemand wird diesen Spuren irgend eine Bedeutung beimessen, solange keine Veranlassung logisch dazu zwingt. Die gefundenen Spuren Nitrit können entweder aus Nitrat hervorgegangen, oder durch Oxydation von Spuren Ammoniak entstanden sein[1]). Tatsache ist, daß auch in Abwesenheit von Nitrat doch Spuren von Nitrit vorhanden sein können.

Auch verschiedene Bakterienarten können bei alkalischer oder neutraler Reaktion der Nährlösung Nitrate mit Leichtigkeit assimilieren, ohne daß Lichtzutritt nötig wäre. Die intermediäre Bildung von Nitrit läßt sich hier aber nur bei bestimmten Bakterienarten beobachten. Da das Wachstum der Bakterien um so schneller vor sich geht, je leichter zersetzlich die als Kohlenstoffquelle dargebotene Substanz ist. so läßt sich

[1]) Aso, Beihefte Bot. Centralbl. **11** und **18**. — Mazé, Compt. rend. **152**, 1624.

auch schließen, daß die Reduktion des vorhandenen Nitrats um so leichter vor sich geht, je leichter zersetzbar die anwesende Verbindung ist[1]. So konnte ich z. B. beobachten, daß in Nährlösungen mit 0,05 % Natriumnitrat als Stickstoffquelle und je 0,1 % Methylalkohol resp. Essigester und Acetessigester als Kohlenstoffquelle in gleichen Zeiten die Bakterienvegetation viel rascher fortschritt bei Acetessigester als bei Methylalkohol und Essigester. — Was andere Kohlenstoffquellen betrifft, so habe ich schon vor vielen Jahren beobachtet, daß Alkohole und Säuren (von Essigsäure an) an Nährwert für aërobe Mikroben und Schimmelpilze um so mehr abnehmen, je höher in den homologen Reihen sie ansteigen[2], und daß Eintritt von Hydroxyl- resp. Aminogruppen den Nährwert begünstigt, offenbar, weil die Substanzen dadurch leichter zersetzlich werden und die zur Eiweißbildung dienenden Atomgruppen leichter daraus hergestellt werden können. Ferner sind Verbindungen von ringförmiger Struktur, wie Pyridin, Antipyrin, Chinolin, Theobromin, Coffein, Aminobenzoesäuren, Benzoesäure auch bei Verdünnungen, bei denen sie nicht mehr schädlich wirken, keine brauchbaren Kohlenstoffquellen oder sehr schlechte, wogegen die gesättigte und Hydroxylgruppen enthaltende Chinasäure wieder eine gute ist.

Von einigem chemischen, wohl aber kaum von physiologischem Interesse ist die Mitteilung von Baudisch, daß sich aus Formaldehyd Wasserstoff entwickelt, wenn er mit Nitromethan oder Kaliumnitrit belichtet wird. Aber eine Wasserstoffentwicklung bei Formaldehyd ist nichts Neues und durchaus nicht immer ein lichtchemischer Vorgang, wie ich schon i. J. 1887 beobachtet habe, denn ich erhielt eine ener-

[1] Ich habe schon vor mehr als 20 Jahren viele Versuche ausgeführt, um mittels Bakterienkulturen den Zusammenhang zwischen der chemischen Struktur eines Stoffes und seiner Brauchbarkeit zur Eiweißbildung zu erkennen. (Centralbl. f. Bakt. 9, Nr. 20 bis 24, 1891; ibid. 12, Nr. 11 und 12, 1892. Siehe auch meine Schrift: Die chemische Energie der lebenden Zellen, 2. Aufl., Kap. IV.)

[2] Nur beim Äthylalkohol existiert eine Ausnahme, da er in einigen Fällen ein günstigeres Substrat bildet als Methylalkohol. Kürzlich ist als neu veröffentlicht worden, daß Schimmelpilze mit Äthylalkohol als alleiniger C-Quelle ihr Eiweiß aufbauen können, während Nägeli schon vor mehr als 32 Jahren diese Beobachtung publiziert hat. Sitzungsber. d. Bayr. Akad. d. Wiss. 1879, 312.

gische Wasserstoffentwicklung aus einer Mischung von Formaldehyd mit Alkali, als etwas Kupferoxydul zugesetzt wurde[1]).

Bei Belichtung von methyl-alkoholischen Kaliumnitratlösungen hat O. Baudisch das Eintreten einer alkalischen Reaktion beobachtet, was er nun als neuen Beweis auffaßt, daß Nitrate nur unter Lichteinfluß in den Pflanzen reduziert werden, weil angeblich auch Hassack eine Ausscheidung von kohlensaurem Kali aus Pflanzenzellen beobachtet habe, als er Wasserpflanzen dem Licht aussetzte. Diese Behauptung von Hassack gründet sich aber lediglich auf die Rötung von Phenolphthalein, welche bekanntlich schon eintritt, wenn man Quellwasser, welches doppeltkohlensauren Kalk enthält, mit Phenolphthalein erwärmt. Hier bringt der entstehende einfachkohlensaure Kalk sofort die Rötung hervor. Ich habe schon längst nachgewiesen[2]), daß die von Hassack beobachtete Rötung im Sonnenlicht nur darauf beruht, daß der vorhandene doppeltkohlensaure Kalk bei der Assimilationstätigkeit jener Wasserpflanzen in einfach kohlensauren Kalk übergeht, und damit fällt natürlich auch die von O. Baudisch begrüßte Analogie.

O. Baudisch unterschätzt offenbar die Energie, welche das lebende Protoplasma aus der Respirationstätigkeit gewinnt und so leicht in chemische Energie umwandelt. Diese Energie ist ebenso wichtig als die Lichtenergie, denn ohne sie ist die Kohlenstoffassimilation im Lichte unmöglich. Ist einmal der Tod eingetreten, so hört jede Assimilation von Kohlensäure auf und wenn noch so viel Licht und noch so viel Chlorophyll vorhanden wäre. Auch von einer „gekoppelten Kohlensäure und Nitratassimilation", welche nach O. Baudisch „beide ineinander greifen" d. h. voneinander abhängen sollen, kann gar keine Rede sein, schon deshalb nicht, weil ja Nitrate bei der Eiweißbildung durch Ammoniaksalze ersetzt werden können. Die Zeiten, in denen man glaubte, jede Stickstoffquelle und auch Ammoniak müsse erst oxydiert, d. h. in Nitrate

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. [illegible] 1-4.

[2]) Flora 1893, Heft 4 [illegible] Berufung auf Molisch seitens O. Baudisch ist nicht angänglic[h]. Herr Prof. Molisch hat mir seinerzeit brieflich mitgeteilt, daß er meine diesbezügliche Richtigstellung von Hassacks Behauptung übersehen habe.

übergeführt werden, um von den Pflanzen verwendet werden zu können, sind vorüber[1]), wie sich aus den Arbeiten von Mazé, Griffiths, Kossowitsch, Hutchinsons und Miller u. a. ergibt.

Da das Licht, besonders die ultravioletten Strahlen, aber manche chemische Wirkungen auszuüben vermag, so wäre es auffallend, wenn in den belichteten Pflanzenteilen nicht noch andere lichtchemische Vorgänge stattfinden könnten als die Kohlensäure-Assimilation. Die Frage ist nur, ob solche Wirkungen auch unbedingt nötig sind. Neuberg[2]) hat mancherlei lichtchemische Vorgänge von erheblichem Interesse beobachtet; sie sind von einer solchen Art, daß man wohl sagen kann, daß sie der Arbeitsweise des lebenden Protoplasmas ähneln. —

Im Jahre 1884 entwickelte Viktor Meyer die Hypothese, daß sich die ersten stickstoffhaltigen organischen Körper in den Pflanzen unter Mitwirkung von Hydroxylamin bilden, weil wir „keine in den Pflanzen vorkommende organische Substanz kennen, welche imstande ist, bei niedriger Temperatur Nitrate oder Ammoniaksalze aufzunehmen, und weil andererseits stickstoffhaltige Körper rasch entstehen, wenn Hydroxylamin mit Substanzen zusammenkommen, welche eine Carbonylgruppe enthalten. Die entstehenden Oximidkörper könnten unter Reduktion dann leicht in Amidokörper übergehen". Im Verein mit E. Schulze[3]) wurden dann Gerste- und Maiskulturen angesetzt, wobei Calciumnitrat mit Ammoniumsulfat und Hydroxylaminsalzen in den Nährlösungen zum Vergleich kamen. Es stellte sich heraus, daß bei Hydroxylamin schon nach kurzer Zeit die Blattspitzen vertrockneten und in fünf bis sechs Tagen die jungen Pflanzen abstarben, während sie in den Kontrollfällen sich normal weiter entwickelten. Die Annahme der Bildung von Hydroxylamin durch Reduktion aus Nitraten in den Zellen würde zwar sonst nicht auf chemische Schwierigkeiten stoßen, wohl aber die Annahme der Bildung durch Oxydation aus Ammoniak, wenn z. B. bei Abschluß von Luft

---

[1]) Ein Unterschied besteht nur darin, daß Ammoniak weit höher verdünnt sein muß als Nitrate. Ersteres kann nicht in der Form von Salzen gespeichert werden, wie Nitrate.

[2]) Diese Zeitschr. **13**, 305; **27**, 271; **28**, 355; **29**, 279.

[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **17**, 1554, 1884.

Mikroben ihr Eiweiß aus Ammoniaksalzen und Zuckerarten bilden; Hydroxylamin kann unter solchen Umständen ebensowenig aus Ammoniak erzeugt werden als Nitrosyl, welches nach der Meinung von Baudisch bei der Eiweißbildung beteiligt sein soll.

Was nun die erste der Eiweißbildung zugrunde liegende Kohlenstoffgruppe betrifft, so ist es von größtem Interesse, daß Fettsäuren durch Eintritt einer Hydroxylgruppe befähigt werden, zur Eiweißbildung bei Luftabschluß zu dienen. Während verschiedene Bakterienarten bei Zutritt von Luft sowohl Propionsäure als Milchsäure zur Eiweißbildung verwenden können, ist bei Luftabschluß dazu wohl Milchsäure, aber nicht Propionsäure verwendbar.

$$\underbrace{CH_3\text{—}CH_2\text{—}COOH}_{\text{Propionsäure}} \qquad \underbrace{CH_3\text{—}CHOH\text{—}COOH}_{\text{Milchsäure}}$$

Es ist also die Gruppe CHOH, das Isomere des Formaldehyds, welche hier eine wichtige Rolle spielt. Man muß in der Tat staunen, wie energisch die Eiweißbildung z. B. aus Weinsäure und Ammoniak bei Abschluß von Luft durch gewisse Arten Anaërobier im Brütofen vor sich geht. Freilich gelingt es den Zellen nicht, jedes Molekül Weinsäure nur in solcher Richtung zu spalten, daß die zur Eiweißbildung führende Gruppe resultiert; es werden zugleich wohl hundertmal so viel Moleküle auch in anderer Richtung unter Bildung von Kohlensäure und Wasserstoff, Essigsäure und Alkohol zerschmettert und dabei viel mehr kinetische Energie aus potentieller erzeugt als die Zellen überhaupt benötigen. Dieser Energiegewinnung durch „intramolekulare Atmung“ hat man viel Beachtung geschenkt, um so weniger aber dem Vorgang der Eiweißbildung unter diesen Umständen[1]).

Daß die erste zur Eiweißbildung dienende Atomgruppe durch den Formaldehyd repräsentiert ist, habe ich auch daraus gefolgert, daß so einfach konstituierte Stoffe wie Essigsäure und Methylalkohol zur Eiweißbildung von manchen aërobischen Mikroben verwendet werden können. Bei den einsetzenden

[1]) Man nehme bei einem solchen Versuch z. B. auf 1 % weinsaures Kali 0,2 % weinsaures Ammoniak, Dikaliumphosphat und Magnesiumsulfat. —

Oxydationsprozessen kann kaum eine andere reagierfähige Atomgruppe entstehen als eben Formaldehyd. Ich habe ferner beobachtet, daß sogar Verbindungen des Formaldehyds, wie formaldehydschwefligsaures Natron und Hexamethylentetramin, ja sogar ameisensaures Natron einer gewissen Bakterienart zur Eiweißbildung dienen können[1]). Die Gewinnung von Formaldehyd ist schon deshalb anzunehmen, weil die sich vermehrenden Bakterien denselben ja ohnehin haben müssen für die Herstellung ihrer Zellmembranen[2]).

O. Baudisch glaubt nun auf einem neuen Standpunkt zu stehen, wenn er folgende von mir schon vor mehr als 30 Jahren[3]) gezogenen Schlüsse annimmt: 1. daß Formaldehyd das Ausgangsmaterial bei der Eiweißbildung ist; 2. daß es unwahrscheinlich ist, daß die Pflanze bei der Eiweißbildung zuerst die verhältnismäßig „trägen Aminosäuren" bildet, um sie zum Eiweißmolekül zu vereinigen; 3. daß Amino-Aldehydkörper wahrscheinlich eine Rolle bei der Eiweißbildung spielen; 4. daß es für das Leben der Pflanzen sicher „von größter Bedeutung ist, möglichst rasch hochmolekulare stickstoffreiche Verbindungen zu erzeugen". — Hier kann aber nur ein Kondensationsprozeß in Betracht kommen, denn eine raschere synthetische Arbeit ist in den Pflanzenzellen wohl nicht denkbar.

Nach Acceptierung meiner Grundsätze erhebt nun O. Baudisch den Vorwurf, daß meine Theorie „der experimentellen

---

[1]) Siehe Centralbl. f. Bakt. 12, Nr. 14, 1892. Ich nannte diese Art Bac. methylicus. Sie kommt im Erdboden, im Süßwasser und im Meere vor. Ich fand sie im Staube der Luft in Deutschland, Japan und Portorico. Siehe auch Katayama, Bull. College Agric., Tokio, 5, 352 und 6, 191.

[2]) Es ist in dieser Beziehung von Interesse, daß Neuberg mit Hilfe von elektrischer Energie Glucose bis zu Formaldehyd abbauen konnte, was Rénard auch mit Glycol und Glycerin gelang. Voisenet (1910) konnte zeigen, daß Äthylalkohol bei Oxydation durch Katalyse und Electrolyse Spuren von Formaldehyd liefert, sowie auch bei der Oxydation durch Mycoderma vini. Benrath hat Bildung von Formaldehyd beobachtet bei der Oxydation organischer Säuren durch verdünnte Salpetersäure bei Gegenwart von Eisensalzen im Sonnenlichte. Die Bildung von Formaldehyd aus Glucose wurde von E. Buchner bei der Wirkung von Kalilösung auf Glucose angenommen und von Windaus auch bei der Bildung von Methylimidazol aus Ammoniak und Glucose.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. 22, 503, 1880.

Begründung entbehre". Damit ist wohl vor allem gemeint, daß der Aldehyd der Asparaginsäure, welcher nach meiner Ansicht die nächste Stufe bei der Eiweißbildung darstellt, nicht bekannt ist[1]). Wie aber im Februarheft dieses Jahres der Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft angedeutet ist, dürfte die Synthese dieses Körpers nicht mehr lange auf sich warten lassen. Solche labilen Stoffe bereiten synthetischen Versuchen sehr große Schwierigkeiten, die bisherigen Methoden versagen und neue Wege müssen ersonnen werden, um die Produkte in unveränderter Form fassen zu können. Deshalb ist es vom theoretischen Standpunkt aus ein ganz besonderes Verdienst, solche schwierigen Synthesen zu bewältigen.

Wenn auch meine Hypothese einer genügenden experimentellen Begründung noch ebenso entbehrt wie die Hypothese von O. Baudisch, so entbehrt sie doch nicht der logischen Entwicklung, indem sie sich auf mehrere physiologische Tatsachen stützt und diese zu einem harmonischen Ganzen verbindet, was man von der Hypothese von Baudisch nicht sagen kann. Diese Tatsachen sind:

1. Gewisse Mikrobenarten können mit Methylalkohol als einziger Kohlenstoffquelle, Ammoniaksalzen und Sulfaten ihr Eiweiß aufbauen.

2. Wenn in keimenden, eiweißreichen Samen die Reserveproteinstoffe zu Aminosäuren zersetzt werden, so werden diese bei der Wanderung zu den Vegetationsspitzen zerstört, und an ihrer Stelle tritt Asparagin[2]) auf.

3. Wenn nach Ausbildung der grünen Blätter bei diesen jungen Pflanzen genügend Glucose zur Verfügung steht, so verschwindet das Asparagin rasch wieder bei fortschreitender

---

[1]) Als ich i. J. 1882 in der Münchner Chemischen Gesellschaft die Frage zur Diskussion brachte, ob Aldehyde von Aminosäuren einen mäßigen Grad von Beständigkeit haben könnten, bemerkte ein Mitglied, daß nach kurz vorher eingetroffener Nachricht der erste Aminoaldehyd dargestellt worden sei; es war der o-Aminobenzaldehyd von Gabriel. Bis dahin kannte man nur einen einzigen, etwas entfernt stehenden Repräsentanten dieser Körpergruppe, das Glucosamin, von dem es übrigens damals noch zweifelhaft war, ob es nicht ein inneres Acetal sei.

[2]) Siehe hierüber besonders die grundlegenden Arbeiten von E. Schulze und E. Winterstein und anderer Mitarbeiter. Daß das Asparagin in enger Beziehung zur Eiweißbildung steht, hat E. Schulze schon vor langer Zeit betont.

Eiweißbildung, ohne daß vorher die 16 „Bausteine“ gebildet werden, welche bei der Hydrolyse von Eiweiß auftreten.

4. Die Eiweißbildung geht sowohl in wachsenden Phanerogamen als in Kulturen von Mikroben so rasch vor sich, daß dieses nur durch einen Kondensationsvorgang geschehen kann.

5. Im Eiweiß findet sich das Verhältnis zwischen Kohlenstoff- und Stickstoffatomen gleich 4:1. Wenn nun ein Kondensationsvorgang zugrunde liegt, so kann dieser wohl nur von dem Aldehyd der Asparaginsäure mit demselben Verhältnis ausgehen. Dieser müßte aus dem Asparagin erzeugt werden unter Mithilfe von Glucose durch die chemische Energie des lebenden Protoplasmas.

6. Toxikologische Studien, welche ich an pflanzlichen und tierischen Organismen ausführte, zeigten, daß alle Körper, welche auf Aldehyd- und Aminogruppen einwirken, auch Gifte für alle lebenden Zellen sind[1]). Da diese Giftwirkungen noch bei großer Verdünnung und bei völlig neutraler Reaktion eintreten, so können nur die bekannten spezifischen Reaktionen jener Stoffe in Betracht kommen und nicht etwa eine reduzierende Wirkung oder beliebige Umlagerung. Zur Erklärung dieses Verhaltens bleibt also nur der Schluß übrig, daß jene Gruppen auch die labile Beschaffenheit der aktiven Proteine im lebenden Protoplasma bedingen, und daß bei ihrer Veränderung weitere Lebensfunktionen unmöglich werden. Es kann also keinem Zweifel unterliegen, daß auch die Proteine des lebenden Protoplasmas Aminoaldehydgruppen enthalten[2]). Damit ist die Folgerung weiter gestützt, daß auch ihre

---

[1]) Diese wie alle auf Eiweißbildung bezüglichen Tatsachen sind sämtlich angeführt in meiner obenerwähnten Schrift, siehe auch die Schrift „Ein natürliches System der Giftwirkungen“, Kap. IV.

[2]) Meine Ansichten über den chemischen Charakter des labilen Zustandes der Proteine im lebenden Protoplasma sind vielfach nicht richtig verstanden worden. Meine Richtigstellungen sind veröffentlicht in: Arch. f. d. ges. Physiol. **80**, 363; Botan. Centralbl. **74**, 1898; Biol. Centralbl. 22, 437, 1902; Flora Erg.-Bd. **1905**, 212; Centralbl. f. Bakt. II, 21, 198. — Über den kinetisch-labilen Zustand siehe auch Kap. IX meiner oben angeführten Schrift und diese Zeitschr. **31**, 160. Ich habe wiederholt betont, daß man einen großen Unterschied machen müsse zwischen kinetisch-labil und potentiell-labil. Wohl nur letztere Art der chemischen Labilität hatte Ostwald im Sinne, als er den Ausdruck metastabil für chemisch-labil vorschlug.

Synthese von einem Aminoaldehyd ausgeht. Ein Dialdehyd, wie es der Asparaginsäurealdehyd ist, würde auch die Bedingung viel besser erfüllen als ein Monoaldehyd, daß nämlic trotz weit vorschreitender Kondensation immer noch eine Anzahl Aldehydgruppen übrigbleiht.

Man hat einmal meiner Hypothese vorgeworfen, daß sie zu viele Aldehydgruppen im Molekül des aktiven Albumins annehme, aber hat jedenfalls hierbei nicht daran gedacht, daß ja eine Säure mit sechs Carboxylgruppen schon längst bekannt ist und jeder Carboxylgruppe auch eine Aldehydgruppe entspricht. Und wie steht es hierbei mit der Peroxyprotsäure Malys, welche noch eine viel größere Anzahl von Carboxylgruppen im Molekül enthält? Vor wenigen Jahren kannte man nur Monoaldehyde. Jetzt sind auch Dialdehyde bekannt geworden, welche wegen ihrer spontanen Polymerisation erhebliches Interesse besitzen. Die Chemie schreitet aber mit Riesenschritten vorwärts, und so dürfte auch wohl ein Trialdehyd (vielleicht der Citronensäure) nicht mehr lange auf sich warten lassen.

Nach meiner wesentlich schon im Jahre 1880 entwickelten Ansicht verläuft also der Eiweißbildungsprozeß in folgenden Stadien:

1. Primäre fundamentale Atomgruppen sind Formaldehyd und Ammoniak.

2. Bildung von Asparaginsäurealdehyd, welcher als Asparagin gespeichert wird, wenn die Eiweißbildung nicht mit der Stickstoffzufuhr gleichen Schritt hält. Da bei dieser Asparaginbildung die Hälfte des Ammoniaks in der leicht wieder abspaltbaren Form der Carbamidgruppe $CO.NH_2$ vorhanden ist, so kann Asparagin zugleich als Speicherungsform für Ammoniak betrachtet werden.

3. Kondensation von 3 Molekülen Asparaginsäurealdehyd zum Zwischenprodukt $C_{12}H_{17}N_3O_4$.

4. Reduzierende Kondensation (Pinakonbildung) von 6 Molekülen dieses Zwischenproduktes unter Eintritt von Schwefelwasserstoff.

Bei diesen Kondensationen ist anzunehmen, daß die Aminogruppe in irgendeiner Weise, vielleicht durch Salze, verhindert wird, mit der Aldehydgruppe zu reagieren.

Die Hypothese kann durch folgende Gleichungen illustriert werden:

$$\text{I. } 4\,CH_2O + NH_3 = \underbrace{C_4H_7NO_2}_{\text{Aldehyd der Asparaginsäure}} + 2\,H_2O$$

$$\text{II. } 3\,C_4H_7NO_2 = \underbrace{C_{12}H_{17}N_3O_4}_{\text{Zwischenprodukt}} + 2\,H_2O$$

$$\text{III. } 6\,C_{12}H_{17}N_3O_4 + 12\,H + H_2S = \underbrace{C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22}}_{\text{Einfachste Formel für Eiweiß}} + 2\,H_2O$$

Von wesentlichem Interesse ist auch das Vorkommen eines von Th. Bokorny und mir studierten sehr labilen Reserveproteinstoffes im Zellsafte vieler Pflanzen[1]), welcher dadurch ausgezeichnet ist, daß er noch Ammoniak und organische Basen aus großen Verdünnungen binden kann und sehr leicht durch Alkohol von 20 %, Erwärmen auf 50 bis 56° und durch Salpetersäure koaguliert.

Daß Ammoniak an der ersten Phase der Eiweißbildung direkt beteiligt ist, habe ich bei Beobachtungen von Kulturen von Mikroben und Schimmelpilzen geschlossen. Ehrlich hat in neuerer Zeit die Abspaltung von Ammoniak auch bei Hefe beobachtet, wenn Aminosäuren zur Nahrung dienen; diese liefern hierbei unter Kohlendioxydabspaltung Alkohole. Eine lehrreiche Analogie hierzu bilden die Beobachtungen Neubergs, daß Aminosäuren unter photokatalytischen Einflüssen ihre Aminogruppe als Ammoniak abspalten. In Keimpflanzen haben E. Schulze und seine Mitarbeiter kleine Mengen Ammoniak nachgewiesen, welche jedenfalls zur Bildung von Eiweiß, resp. Asparagin dienen, denn Kinoshita sowohl als U. Susuki[2]) haben gezeigt, daß von außen dargebotene Ammoniaksalze in den Pflanzen in Asparagin übergehen[3]).

Wenn man den chemischen Charakter des aktiven, resp. des durch Umlagerung daraus hervorgehenden passiven Albumins, wie sie sich nach obigem Prinzip ergeben würde, be-

---

[1]) Die Energie der lebenden Zellen, Kap. VII und VIII, sowie Flora **102**, 113.

[2]) Bull. College Agric., Tokio, 2, 201 u. 409, und O. L., Chem.-Zeitg. **1896**, Nr. 16.

[3]) Wenn sämtliche Bedingungen zur Eiweißbildung erfüllt sind und Stickstoff nicht in Überschuß vorhanden ist, so bleibt die Bildung von Asparagin natürlich aus, und es bildet sich direkt Eiweiß.

trachtet, so scheint es schwierig zu erklären, wie aus diesem Komplex bei der sog. Hydrolyse 16 Aminokörper resultieren können. Es fragt sich, ob wir so weitgehende Veränderungen annehmen dürfen, als für eine plausible Erklärung des Resultates anzunehmen wären. Aber die Logik zwingt uns dazu, bei dem großen Molekül von Eiweiß, resp. Pepton umfangreichere Atomverschiebungen zuzugestehen als z. B. bei dem kleineren Molekül der Zuckerarten, obwohl wir auch hier einige sehr merkwürdige Umänderungen annehmen müssen, wie z. B. bei der Bildung von Brenzkatechin aus Glucose durch Kalilauge oder bei der Bildung von Furfurol und Humussäuren aus Fructose durch Kochen mit Säuren oder bei der Entstehung der Saccharinsäuren. An eine einfache Hydrolyse wird hier kein Chemiker denken.

Wenn man ferner die Zersetzungsprodukte von Proteinstoffen näher betrachtet, so erkennt man sofort einige Gruppen zusammengehöriger Körper, welche wahrscheinlich dem gleichen Atomkomplex ihre Entstehung zu verdanken haben dürften. Diese Gruppen sind:

1. Leucin und Lysin,
2. Valin, Arginin, Prolin,
3. Glutaminsäure und Asparaginsäure.
4. Tyrosin und Phenylalanin.

Daß diese einander so nahe stehenden Stoffe separate Glieder im großen Eiweißmolekül bilden sollen und mittels Amino-Carboxylkuppelung zusammenhängen sollen, scheint recht zweifelhaft. Was hätte das für einen physiologischen Sinn, was für einen physiologischen Vorteil?

Ist es nun denkbar, daß der Aufbau von Albumin im tierischen Organismus so ganz anders verläuft als in Pflanzen, oder ist es nicht wahrscheinlicher, daß derselbe von einem Mittelglied des obenerwähnten Kondensationsvorganges oder von einer labilen Form von Pepton ausgeht? Die ebenso interessanten wie mühsamen Versuche von Abderhalden scheinen mir endgültige Beweise für jene Auffassung, daß das Eiweißmolekül aus 16 verschiedenen Bausteinen aufgebaut wird, noch nicht zu enthalten. Auch könnte in dieser Weise nur ein indifferentes Polypeptid, nicht aber ein labiler Eiweißkörper entstehen, wie wir ihn im lebenden Protoplasma annehmen müssen.

In anerkennenswerter Weise hat Abderhalden selbst in seiner Schrift über Synthese der Zellbausteine[1]) die Einwände, welche gegen seine Hypothese erhoben werden können, aufgeführt, und dieselben zu erledigen versucht, was freilich nicht immer gut geglückt ist. So weist er darauf hin, daß die verschiedenen Aminosäuren verschieden rasch im Darme aus Nahrungseiweiß resp. dessen Pepton abgespalten werden, und zwar zuerst Tyrosin und Tryptophan, welche also eher resorbiert werden von der Darmwand als die anderen Aminosäuren, welche nachher an anderen Stellen des Darmes aufgenommen werden. Wie können dann aber alle diese Bausteine wieder in der richtigen Menge vereinigt werden, wenn Eiweiß daraus in der Darmwand aufgebaut werden soll?

Es ist sehr bezeichnend, daß jene beiden Aminosäuren, welche zuerst abgespalten werden, auch schon ihre nahe Fertigbildung im Albumin durch die Reaktionen von Millon resp. Adamkiewicz verraten.

Diese beiden Aminosäuren scheinen von speziellem physiologischem Werte zu sein, und zwar das Tyrosin als Muttersubstanz des Adrenalins, wie Halle sehr wahrscheinlich gemacht hat, und das Tryptophan als Material für Hämatinbildung, was wiederholt angenommen ist. Glutaminsäure und Prolin können bei der Hämatinbildung erst in zweiter Linie in Betracht kommen; denn sie würden weniger günstig sein.

Auch Wilcock und Hopkins[2]) haben bei Versuchen an mit Zein gefütterten Mäusen beobachtet, daß Tryptophan die Lebensdauer und das Wohlbefinden günstig beeinflußt. Die physiologische Wirkung steigender Mengen Tryptophan sollte auch für volle Ernährung studiert werden.

Auch aus Versuchen von Abderhalden geht die Wichtigkeit des Tryptophans hervor. Es ist unentbehrlich für den Unterhalt seiner Versuchstiere gewesen, während sowohl Glykokoll als Prolin im verfütterten Aminosäurengemisch sich als entbehrlich erwiesen haben. Wahrscheinlich dürfte auch noch manche andere Aminosäure entbehrlich sein.

Wenn man nun bedenkt, daß im Darme sich eine ungeheure Menge von Bakterien entwickelt, welche sogar bei Mangel an Luft aus einer einzigen Aminosäure resp. Ammoniak Eiweiß aufbauen können, wenn noch Kohlenhydrat oder anderes

---

[1]) Synthese der Zellbausteine in Pflanze und Tier, Berlin, Verlag von Julius Springer.

[2]) Journ. of Physiol. 35, 88.

vergärbares Material anwesend ist (auch im Fleisch sind ja Glykogen und milchsaure Salze enthalten), wenn man ferner in Betracht zieht, daß die Bakterien später im Darme wieder massenhaft absterben und dann gelöst werden können, so dürfte die Eiweißbildung durch Bakterien bei Verfütterung von abgebautem Fleisch nicht schlechtweg ignoriert werden. Die lehrreichen Resultate, welche Abderhalden[1]) bei seinen Fütterungsversuchen am Hunde erzielt hat, sind vielleicht auch in der Weise erklärlich, daß die Eiweißbildung durch Mikroben im Darme für den Hundeorganismus dann ausreicht, wenn noch eine spezielle Zugabe der physiologisch wichtigen Substanzen Tyrosin und Tryptophan stattfindet.

Die Masse der Bakterien im Darme von Carnivoren und Omnivoren ist zwar eine geringere als im Verdauungstractus der Wiederkäuer, sollte aber doch nicht so weit unterschätzt werden, als es geschehen ist. Um über das Verhalten von Bacterium coli, des hauptsächlichsten Darmbewohners, gegen einige Amidosäuren und Ammoniak als Stickstoffquellen zu beobachten, wurden Nährlösungen mit 2 % Glucose als Kohlenstoffquelle versetzt a) mit 0,5 % Ammoniumphosphat, b) ebensoviel Asparagin und c) Leucin und nach Sterilisieren und Infizieren mit B. coli im Thermostat bei 34° stehen gelassen. Das eingesetzte Gasableitungsrohr enthielt eine Schicht Öl zum Abschluß der Luft. Die Lösungen a) und c) hatten einen Zusatz von 2 % sterilisierten kohlensauren Kalk erhalten. Es ergab sich schon nach 2 Tagen starke Bakterienentwicklung beim Ammoniak, nahezu ebenso stark beim Asparagin, aber nur schwach beim Leucin. Nach weiteren 2 Tagen war starke Gasentwicklung in der Ammoniaknährlösung eingetreten, schwächer beim Asparagin, wo übrigens starke Milchsäuregärung der Glucose und Ammoniakabspaltung aus Asparagin eingetreten war. Leucin gehört offenbar zu den für Bacterium coli weniger günstigen Aminosäuren, denn selbst nach 8 Tagen war Trübung, Gärung und Bakterienentwicklung weit schwächer als bei a) und b) nach 4 Tagen.

Die Menge von leicht verdaulichem Kohlenhydrat übt einen großen Einfluß auf den Grad der Bakterienvermehrung aus. Darauf mag es zum Teil beruhen, daß Henriquez und

---

[1]) Siehe besonders Zeitschr. f. physiol. Chem. 77, 22 und 59.

Hansen[1]) mit „Gemischen von Amidsubstanzen" bei Fütterung von Ratten den Stickstoffverlust vom Körper nicht verhindern konnten. Hätten sie statt Cellulose Stärkemehl ihrer Mischung beigesetzt, so wäre vielleicht das Resultat ein anderes gewesen.

Osborne und Mendel[2]) haben 2 Ratten 178 Tage lang gefüttert mit Gliadin als einzigen Eiweißkörper in der Nahrung. Diese Tiere hatten während dieser Zeit Junge und nährten sie erfolgreich, obwohl doch Gliadin sehr viel mehr Glutaminsäure bei der Hydrolyse liefert als Eiweiß oder Fleisch und gar kein Lysin. Hunde aber lieferten mit Gliadin als Nahrung bei Abderhalden stets eine negative Stickstoffbilanz, auch dann, wenn Lysin zugesetzt wurde. Sollte hier die Beigabe von Kohlenhydrat zu gering gewesen sein oder lieferte das Gliadin zu wenig Tryptophan für den Hundeorganismus?

Von Interesse ist eine kürzlich erschienene Mitteilung von Grafe und Schäfer[3]), denen es gelang, bei einem Hunde mit Ammoniumcitrat, Weizenstärke, Rohrzucker und Butter bei Ausschluß von Aminokörpern und Protein Stickstoffgleichgewicht zu erzielen. Die Verfasser neigen zur Ansicht, daß die tierischen Zellen selbst unter diesen Umständen aus Kohlenhydrat und Ammoniak Eiweiß synthetisiert haben. (Woher kam aber der Schwefel dieses Eiweißstoffs?) Dieses könnte aber wohl nur auf dem Wege eines Kondensationsvorganges geschehen wie in pflanzlichen Zellen, denn dieses wäre immerhin weit einfacher und für die Zellen naturgemäßer als der vorherige Aufbau von 16 Aminosäuren und deren Zusammenfügung an der richtigen Stelle und in der richtigen Menge.

Es läge dann eine Analogie zur Bildung von Glycogen aus Formaldehyd durch die Zellen der Leber vor, worüber Grube[4]) berichtet hat. Als dieser Forscher Ringerlösung mit 0,01 bis 0,02 % Formaldehyd durch eine frische Schildkröten-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **54**, 169, 1907.

[2]) Science, **1911**, 732. Gliadin konnte zwar das Leben unterhalten, aber nicht zum Wachstum junger Tiere beitragen, wenn sie direkt damit gefüttert wurden.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**, 1, 1912.

[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. **121**, 636 und **126**, 585.

leber strömen ließ, beobachtete er eine Vermehrung des Glycogens um 8,8 bis 77,1 %.

Kondensation und Polymerisation sind also Operationen, welche auch die Leberzellen mit Leichtigkeit ausführen. Ein analoger Versuch über die Eiweißbildung in der Leber aus Ammoniaksalzen und Glucose, bei Zusatz geringer Mengen von Sulfaten und ev. Dikaliumphosphat dürfte auch dann lehrreich sein, wenn er ein negatives Resultat liefern würde, weil sich dann daraus ergibt, daß die Darmbakterien beim Eiweißmangel in der tierischen Nahrung eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen können.

Zusammenfassung.

1. Die Reduktion von Nitrat in Pflanzenzellen ist kein lichtchemischer Prozeß, ebensowenig die Sulfatreduktion.

2. Die Rötung von Phenolphthalein durch belichtete Wasserpflanzen deutet nicht auf eine Ausscheidung von kohlensaurem Alkali aus den Pflanzenzellen, wie Baudisch meint, sondern beruht auf der Bildung von einfach kohlensaurem Kalk aus doppeltkohlensaurem.

3. Die Eiweißbildung in Pflanzen ist weder von einer partiellen Oxydation des Ammoniaks (Nitrosylbildung) abhängig, noch von Belichtung, was am einfachsten mittels niederer Pilze demonstriert werden kann. Die relative Beschleunigung der Eiweißbildung in belichteten Blättern ist teilweise eine Folge der in den Blättern begünstigten Betriebsenergie des lebenden Protoplasmas, teils eine Folge vermehrter Kohlenhydratbildung. Eine direkte Wirkung des Lichtes auf den Chemismus der Eiweißbildung in den Blättern dürfte deshalb nicht wahrscheinlich sein, weil bei den Pilzen ein solcher Einfluß nicht stattfindet.

4. Asparagin kann sowohl als Speicherungsform für Ammoniak betrachtet werden, als auch als Speicherungsform für ein Zwischenprodukt bei der Eiweißbildung.

5. Es besteht eine Anzahl Tatsachen, aus denen gefolgert werden muß, daß die Eiweißbildung auf einem Kondensationsprozeß beruht.

Zum forensisch-chemischen Nachweis von Sadebaumölvergiftung.

Von

Juho Hämäläinen.

(Aus den physiolog. u. chem. Instituten der Universität zu Helsingfors.)

(Eingegangen am 18. April 1912.)

Das Sadebaumöl, welches aus den Blättern und Früchten von Juniperus Sabina L. durch Wasserdampfdestillation gewonnen wird, findet bekanntlich in der Volksmedizin Verwendung als Abortivmittel. Das Öl enthält nach Fromm[1]) etwa 50 % Sabinolacetat, welches das toxische Prinzip darstellt[2]). Das durch Verseifung des Acetats entstandene Sabinol:

```
     CH3   CH3
        \ /
         CH
         |
         C
 H2C  / | \  CH2
 HC   \ |   / CHOH
         C
         ‖
        CH2
```

wird im Organismus zum Teil an Glucuronsäure gepaart und erscheint im Harn als Sabinolglucuronsäure[3]).

---

[1]) Fromm, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2025, 1898.

[2]) Hildebrandt, Versammlung Deutsch. Naturf. u. Ärzte, Hamburg 1901.

[3]) Hildebrandt, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **45**, 110, 1901. — Fromm und Hildebrandt, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 591 bis 593, 1901. — Fromm und Clemens, ebenda **40**, 251, 1903. — Fromm, ebenda **41**, 243, 1904.

In Vergiftungsfällen, wo die Untersuchung des Magen-Darminhalts im Stiche läßt bzw. Reste vom gebrauchten Material nicht mehr zur Verfügung stehen, ist man ev. auf den Harn angewiesen. Hildebrandt[1]) empfiehlt dabei folgendes Verfahren: Man destilliert den Harn mit verdünnter Mineralsäure, sammelt das auf der Oberfläche des Destillats schwimmende Öl, welches u. a. aus p-Cymol besteht, und gibt es einem Kaninchen. Der Harn des Kaninchens wird am Rückflußkühler mit Mineralsäure gekocht, darauf alkalisch gemacht, wobei die in Freiheit gesetzten Terpene übergehen, sodann bei saurer Reaktion die durch Oxydation von p-Cymol im Organismus entstandene Cuminsäure überdestilliert, die ein chemisch gut charakterisierter Körper ist.

Außer dem Sadebaumöle kommen unter den ätherischen Ölen hauptsächlich noch das Thujaöl aus Thuja occidentalis und das Terpentinöl aus verschiedenen Pinus- und Abiesarten als Fruchtabtreibungsmittel in Betracht. Der wirksame Bestandteil von Thujaöl, das Thujon, wird im Organismus durch Wasseraufnahme zu „Thujonhydrat" verwandelt, welches sich mit Glucuronsäure paart[2]). Durch Kochen des Harns mit Mineralsäure bekommt man neben Glucuronsäure ein Cymol $C_{10}H_{14}$, welches jedoch nicht die p-Verbindung ist[2]). Das Terpentinöl dagegen, nämlich das deutsche, französische, italienische und amerikanische, enthält als Hauptbestandteil Pinen, welches zum Teil als Pinenolglukuronsäure[3]) im Harn erscheint. Durch Hydrolyse mit Mineralsäure in der Wärme wird die gepaarte Säure in Glucuronsäure und Pinenol gespalten, welches letztere dabei weiter in Cymol und Wasser zerfällt. Das so erhaltene Cymol habe ich[4]) durch Oxydation mit Permanganat in p-Oxyisopropylbenzoesäure überführen können, wodurch der Beweis erbracht wurde, daß es sich gerade um das p-Cymol handelte. Unter solchen Umständen ist das Terpentinöl vom Sabinaöle in obiger Weise nicht zu unterscheiden.

---

[1]) Hildebrandt, 17. Hauptversammlung d. Preuß. Med.-Beamtenvereins 1900, S. 2.

[2]) Fromm und Hildebrandt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 594, 1901.

[3]) Fromm und Hildebrandt, ebenda S. 591.

[4]) Hämäläinen, Skand. Arch. f. Physiol. 23, 54, 1912.

Es ist mir dagegen schließlich gelungen, zu wohlcharakterisierten Salzen der Sabinolglucuronsäure zu gelangen. Unter diesen ist das Strychninsalz[1]) dazu geeignet, um eine Vergiftung mit Sabinaöl u. U. nachweisen zu können. Um das Salz darzustellen, verfährt man folgendermaßen: Der Harn wird in üblicher Weise mit neutralem Bleiacetat bei neutraler oder schwach saurer Reaktion gefällt, der Niederschlag abfiltriert und gewaschen, die vereinigten Filtrate mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit basischem Bleiacetat versetzt, so lange gerade ein Niederschlag entsteht. Das basische Pb-Salz wird wiederholt mit Wasser ausgewaschen, durch 5%ige H_2SO_4 in der Kälte zersetzt, das $PbSO_4$ abfiltriert und das Filtrat baldigst mit $BaCO_3$ neutralisiert. Das Filtrat wird konzentriert, am besten im Vakuum. Man fällt das Ba in der Wärme quantitativ mit heißer Strychninsulfatlösung und filtriert heiß. Beim Erkalten scheidet sich das sabinolglucuronsaure Strychnin in prächtigen, ziemlich derben Nadeln aus, die aus wenig kochendem Wasser umkrystallisiert werden.

Das Salz krystallisiert mit 2 Mol. H_2O, sindert bei 190° und schmilzt unter Zersetzung scharf bei 196 bis 197°. $[\alpha]_D^{20°} = -39{,}66°$.

Es ist schwer löslich in kaltem Wasser, ziemlich leicht in heißem. In Alkohol, Äther, Aceton, Essigester, Benzol, Chloroform und Petroläther ist es bei Zimmertemperatur schwer löslich.

Aus der Mutterlauge scheidet sich beim Einengen ein Strychninsalz mit 3 Mol. H_2O, welches bei 105° sein Krystallwasser bis auf 2 Mol. verliert. Es bildet glänzende, verfilzte Nadeln vom Schmelzpunkt 192 bis 193°. $[\alpha]_D^{20°} = -37{,}08°$. Es ist leichter löslich als das vorige. Durch ziemlich rasches Abkühlen seiner heißen gesättigten Lösung kommt das Salz mit 2 Mol. H_2O heraus.

Eine Dosis von etwa $1^1/_2$ ccm Sabinol bzw. 3 bis 4 ccm Sabinaöl genügt, um aus dem Kaninchenharn die Sabinolglucuronsäure als Strychninsalz nachzuweisen.

Das zu diesen Versuchen angewandte Sabinol und Sabinaöl waren von der Firma Schimmel & Co. in Miltitz bezogen. Als

[1]) Siehe Neuberg, Der Harn. Berlin 1911, S. 447.

Versuchstiere dienten Kaninchen, da es darauf ankam, eine möglichst große Ausbeute an Sabinolglucuronsäure zu bekommen.

Es wurden zweimal täglich 2 ccm Sabinol bzw. 4 ccm Sabinaöl den Kaninchen mittels der Schlundsonde beigebracht. Aus dem Harne wurde die gepaarte Säure in obiger Weise als Strychninsalz isoliert. Einmaliges Umkrystallisieren aus heißem Wasser genügt, um das Salz rein zu erhalten.

Die Analyse ergab:

0,2168 g	gaben	0,5085 g CO_2	und	0,1359 g H_2O
0,1505 g	„	0,3530 g CO_2	„	0,0920 g H_2O
0,2127 g	„	0,0084 g N		(nach Kjeldahl)
0,3125 g	„	0,0125 g N		(„ „)

Ber. für $C_{37}H_{46}O_9N_2 + 2H_2O$:	Gef.:
C = 63,56%	63,97%; 63,97%
H = 7,23%	7,01%; 6,84%
N = 4,01%	3,95%; 4,00%

Optische Drehung. 0,4614 g Substanz wurden in warmem Alkohol gelöst und bei 20° genau auf 20 ccm aufgefüllt. C = 2,307. l = 2 Dm. $\alpha = -1,83°$ bei 20°.

$$[\alpha]_D^{20°} = -39,66°.$$

Die Mutterlauge wurde auf dem Wasserbade eingeengt bis Krystallisation erfolgte. Die ausgeschiedene Substanz bildete verfilzte, glänzende Nadeln, die den Schmelzpunkt 192 bis 193° zeigten und bei der Analyse folgende Werte gaben:

0,1596 g	gaben	0,3637 g CO_2	und	0,1005 g H_2O
0,1600 g	„	0,00625 g N		(nach Kjeldahl)

Ber. für $C_{37}H_{46}O_9N_2 + 3H_2O$:	Gef.:
C = 61,96%	62,15%
H = 7,33%	7,04%
C = 3,92%	3,91%

Optische Drehung. 0,1618 g Substanz wurden in warmem Alkohol gelöst und bei 20° genau auf 10 ccm aufgefüllt. C = 1,618. l = 1 Dm. $\alpha = -0,60°$ bei 20°.

$$[\alpha]_D^{20°} = -37,08°.$$

0,3766 g Substanz verloren bei 105° zur Gewichtskonstanz getrocknet 0,0093 g an Gewicht.

Ber. für $C_{37}H_{46}O_9N_2 + 3\,H_2O : 1\,H_2O$: Gef.:
$H_2O = 2{,}58\,\%$ 2,39 %

Höher erhitzt begann das Salz braun zu werden.

Über das Strychninsalz wurden nun einige anorganische Salze dargestellt, und zwar zuerst das Ba-Salz. Zu dem Zwecke wurden 10 g des Strychninsalzes in heißem Wasser gelöst und die Lösung mit fein pulverisiertem $Ba(OH)_2$ im Überschuß versetzt. Das ausgeschiedene Strychnin wurde nach dem Erkalten abfiltriert und das Filtrat so lange mit Chloroform ausgeschüttelt bis die Fröhdesche Strychninreaktion negativ wurde. Darauf wurde die Lösung durch Erwärmen auf dem Wasserbade vom Chloroform befreit und mit CO_2 gesättigt. Das ausgeschiedene $BaCO_3$ wurde abfiltriert und das Filtrat eingeengt, bis sich Krystalle abzuscheiden begannen. Das rohe Ba-Salz wurde zweimal aus heißem Wasser umkrystallisiert. Es bildet bis 1 cm lange, schneeweiße, glänzende Nadeln, die nicht besonders leicht löslich in kaltem Wasser, schwerlöslich in Alkohol bei Zimmertemperatur, leichter in der Wärme, unlöslich in anderen organischen Solventien sind.

Die Ba-Bestimmung ergab:

0,1482 g gaben 0,0421 g $BaSO_4$

Ber. für $C_{32}H_{46}O_{14}Ba + 2\,H_2O$: Gef.:
$Ba = 16{,}60\,\%$ 16,71 %

Das Salz verliert sein Krystallwasser nicht ohne gleichzeitige Zersetzung.

Aus dem Ba-Salze wurden durch Umsetzen mit dem betreffenden Sulfat noch das K-, NH_4- und Na-Salz dargestellt. Dieselben krystallisieren gut und sind leicht löslich in Wasser, schwerlöslich in Alkohol, unlöslich in anderen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln. Alle drei enthalten 1 Mol. H_2O, welches beim Na-Salze bei 105 bis 110° abgeht. Außerdem ist die semicyklische Doppelbindung sowohl beim Ba- als bei den Alkalisalzen nachweisbar: dieselben entfärben augenblicklich Brom und kalte alkalische Permanganatlösung. Hierdurch ist endgültig der Beweis geliefert, daß das Sabinol un-

verändert und unter Wasseraustritt die Paarung mit Glucuronsäure eingeht.

0,3816 g Na-Salz verloren bei 105 bis 110° zum konstanten Gewicht getrocknet 0,0186 g H_2O.

Ber. für $C_{16}H_{23}O_7Na + H_2O$:	Gef.:
$H_2O = 4{,}89\ \%$	4,72 %

0,1133 g wasserfr. Na-Salzes gaben 0,2248 g CO_2 und 0,0658 g H_2O
0,1252 g „ „ „ 0,2508 g CO_2 „ 0,0740 g H_2O
0,1201 g „ „ „ 0,0247 g Na_2SO_4

Ber. für $C_{16}H_{23}O_7Na$:	Gef.:
C = 54,81 %	54,11 %; 54,63 %
H = 6,63 %	6,50 %; 6,62 %
Na = 6,58 %	6,67 %

Die freie Sabinolglucuronsäure wurde aus dem Ba-Salze durch vorsichtiges Fällen des Ba mit verdünnter H_2SO_4 dargestellt. Sie krystallisiert nicht, sondern bildet eine farblose, durchsichtige, blasige Masse, die im Vakuum über P_2O_5 getrocknet bei 82 bis 83° schmilzt, leicht pulverisierbar ist und beim Auflösen in Wasser sich bald zersetzt.

Die frisch dargestellte freie Säure reduziert nicht Fehlingsche Lösung, nach einigem Stehen der wässerigen Lösung tritt aber positive Reaktion allmählich ein, zugleich wird ein ätherischer Geruch wahrnehmbar. Aus diesem Grunde war es nicht möglich, die Einwirkung von Enzymen auf die gepaarte Säure zu prüfen.

Die Reaktion des Blutes.

Von

Christen Lundsgaard.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts Kopenhagen.)

(Eingegangen am 22. April 1912.)

Mit 1 Figur im Text.

Diese Abhandlung ist eine kritische Würdigung der Methoden, die zur Messung der Reaktion des Blutes vorliegen, sowie ein auf Experimenten begründeter Versuch, die Reaktion des normalen Menschenblutes bei 38° festzustellen.

Niemand wird die Bedeutung der Kenntnis der normalen Reaktion des Blutes unterschätzen. Sowohl in rein biologischer wie auch in speziell medizinischer Beziehung ist es von Interesse, festzustellen, ob die Reaktion des Blutes eine variable oder eine konstante Größe ist, und in letzterem Falle, welche Größe. Solange keine wirklich zuverlässigen Reaktionsmessungen vorliegen, muß es als in hohem Maße problematisch erscheinen, die Pathogenese von allerlei Leiden in Veränderungen der Blutreaktionen zn suchen (z. B. Osteomalacie, Arthritis urica, Coma diabeticum u. a.).

Hieraus wird man zugleich ersehen können, ob eine Veranlassung vorliegt, den Versuch zu machen, die Blutreaktion bei gewissen Leiden zu ändern, und ob die Mittel, die bisher zu diesem Zweck Verwendung gefunden haben, von irgendwelcher reellen Wirkung gewesen sind (wie z. B. Alkalitherapie bei Acidosis).

Dies in bezug auf die Bedeutung der Aufgabe.

Die allgemein verbreiteste Anschauung über die Reaktion des Blutes ist zurzeit die, daß sie eine ziemlich konstante Größe ist, die ein wenig nach der alkalischen Seite des Neutralitäts-

punktes neigt. Mit Hilfe einer ausgedehnten Regulierung durch Ausscheidungen in den Nieren sollte es dem Körper gelingen, diese konstante Reaktion aufrechtzuerhalten. Genaue und namentlich vollständige Untersuchungen über die Neutralitätsregulation des Körpers liegen noch nicht vor. Rein theoretisch hat Henderson[1]) in einer vorzüglichen Abhandlung eine Übersicht über die Frage gegeben. Er geht von der Ansicht aus, daß sich der Körper mit äußerster Kraft anstrengt, seine Blutreaktion konstant zu erhalten, und er stellt verschiedene Betrachtungen über den Mechanismus an, den der Körper hierzu verwendet. Bei Untersuchungen über die Ammoniakausscheidung im Harn geht Gammeltoft[2]) von dieser selben Betrachtung aus und erzielt mit Hilfe dieser Arbeitshypothese schöne Resultate, die durch ihre Gesetzmäßigkeit die Richtigkeit des Ausgangspunktes wahrscheinlich machen.

Trotz alledem ist die Ansicht über die Konstanz der Blutreaktion nur ein Dogma. — Der experimentelle Beweis fehlt noch immer; ja, die Mehrzahl der vorliegenden Untersuchungen sind so voneinander abweichend, daß sie wohl eher nach der entgegengesetzten Richtung gedeutet werden müßten, wenn man ihnen eine entscheidende Bedeutung beimessen wollte.

Als erste Bedingung, um die Frage über die Reaktion des Blutes lösen zu können, erscheint mir eine so scharfe Präzisierung der Aufgabe, wie dies überhaupt nur möglich ist.

Denn was versteht man eigentlich unter Reaktion des „Blutes"? Ist es die Reaktion des Venen- oder des Arterienblutes? Ist es gleichgültig, von welchem Tier das Blut genommen ist? Spielt die Temperatur eine Rolle? usw. Es treten uns hier eine Reihe von Fragen entgegen, auf die man bisher nicht hinreichend Rücksicht genommen hat, die aber notwendigerweise eine Untersuchung heischen.

Forscht man nach, was als Maß für die Reaktion des Blutes angegeben wird, so führt z. B. Botazzi[3]) eine Zahl an, die dadurch gewonnen ist, daß man den Durchschnitt der Mehrzahl der bisher vorliegenden Messungen nimmt.

---

[1]) L. J. Henderson, Asher-Spiros Ergebnisse d. Physiol. 8, 1909.

[2]) S. A. Gammeltoft, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 1911.

[3]) Botazzi in: C. Neuberg, Der Harn sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten. Berlin 1911.

Ich führe hier diese Messungen an:

	p_H.
Michaelis und Rona	7,91
Farkas und Scipiades	7,41
Tedeschi	7,40
Höber	7,37
Szili	7,37
Pfaundler	7,37
Farkas	7,37
Fränkel	7,26
Foà	7,27
Im Durchschnitt	7,41.

Die in der Tabelle angegebenen Werte des einzelnen Verfassers sind wieder Durchschnitte von mehreren Messungen, welche oft untereinander im höchsten Grade variieren.

Man wird leicht verstehen, daß eine solche Zahl nicht gar viel bedeutet. Denn der Verfasser hat z. B. gar keine Rücksicht darauf genommen, von welchen Tierarten das Blut stammt wie auch nicht auf die größere oder geringere Genauigkeit der Messungsmethoden der verschiedenen Forscher. Es erscheint auch als recht sonderbar, als „Maß“ für die Reaktion des Blutes eine bestimmte Zahl anzugeben, während man gleichzeitig anführt, daß die individuellen Schwankungen bei den einzelnen Untersuchungen sehr groß sind, und daß dies als ein echt physiologisches Phänomen betrachtet werden muß[1]).

Um die Genauigkeit und die Bedeutung meiner eigenen Messungen beurteilen zu können, und um eine Grundlage für einen Vergleich zu gewinnen, habe ich es als durchaus notwendig erachtet, einen kritischen Überblick über das Wichtigste von dem zu gewinnen, was bisher in bezug auf die Messung der Reaktion des Blutes vorliegt. Diese Betrachtungen sollen keineswegs eine Darstellung von allem sein, was vorliegt. Die Absicht ist, nur die Prinzipien festzustellen. Im übrigen verweise ich auf die angeführten Quellen.

I.

Die Methodik „strictissimo sensu“.

Die ältesten Methoden gehen darauf hinaus, ganz einfach das Blut zu titrieren. Ihre Fehler sind nach Friedenthals

[1]) Botazzi, l. c.

Arbeiten so einleuchtend, daß sich jetzt niemand mehr darauf einlassen wird, diese Methoden zur Bestimmung der Reaktion des Blutes zu verwenden. Die Titriermethoden sind jedoch dadurch keineswegs überflüssig. Im Gegenteil, wo es sich darum handelt, die Basen- und Säurebindungsfähigkeit des Blutes zu untersuchen, werden sie stets unentbehrlich sein[1]).

Die einzigen Methoden, die zur Bestimmung der Reaktion des Blutes praktisch anwendbar sind, sind zweifelsohne: a) die von Walther[2]) 1877 eingeführte Methode, die darauf hinausgeht, den Gehalt des Blutes an Kohlensäure zu bestimmen, sowie b) die von Bugarszky und Liebermann[3]) 1898 angewendete elektrometrische Methode. Die Anwendbarkeit der ersten Methode beruht auf dem von Henderson[4]) weit später nachgewiesenen konstanten Verhältnis zwischen der Kohlensäure des Blutes und seiner Alkalinität (bei gleicher Kohlensäurespannung). Diese Methode ist nur wenig angewendet und steht sicher in bezug auf Genauigkeit und bequeme Anwendbarkeit hinter der elektromotorischen zurück, in der Form, die diese jetzt hat.

Bei Reaktionsmessungen von Serum könnte es verlockend erscheinen, Colorimetrie anzuwenden, namentlich nachdem Sörensen[5]) durch seine ausgezeichnete Arbeit diese Methode ausgearbeitet und präzisiert hat. Aber gerade bei kohlensäurehaltigen Flüssigkeiten wird dies Verfahren, was auch Sörensen selbst hervorhebt, keine hinreichend genauen Resultate ergeben.

Der erste, der die Reaktion des Blutes durch Konzentrationsketten maß, war Höber 1900[6]). Höber machte seine Messungen an defibriniertem Blut und verwandte zu seinen ersten Versuchen Sauerstoffelektroden (wodurch man direkt die OH-Ionenkonzentration mißt). Die Ergebnisse waren untereinander stark abweichend (und im Verhältnis zu den neueren Messungen zu alkalisch). Außerdem erlangte man während der Messungen keine Konstanz. Die Ursuche hiervon besteht nach

---

[1]) Botazzi, l. c.

[2]) J. Walther, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 7, 1877.

[3]) Bugarszky und Liebermann, Arch. f. d. ges. Physiol. 72, 1898.

[4]) L. J. Henderson, Ergebnisse d. Physiol. 8, 1909.

[5]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien, 2 Bändchen. Diese Zeitschr. 21, 1909.

[6]) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 86, 1900.

Höbers Ansicht darin, daß sich der Sauerstoff so mit dem Platin der Elektrode verbindet, daß statt einer Sauerstoffelektrode eine Platin-Sauerstoffgaselektrode entsteht. Höber ging deswegen zu der Verwendung von Wasserstoffelektroden über, die gute Haltbarkeit und leicht erreichbare Konstanz ergeben. Hierbei wird die Wasserstoffionenkonzentration direkt gemessen. Wünscht man das Resultat durch OH-Ionenkonzentration auszudrücken, so geschieht das mittels der bekannten Formel:

$$C_{H} \cdot C_{OH'} = C_{H-OH}.$$

Für C_{H-OH} (die Dissoziationskonstante des Wassers) hat man sehr zuverlässige Zahlen.

Seitdem ist man bei den Wasserstoffelektroden stehen geblieben.

Aber auch mit dieser Methode erzielte Höber Resultate, die sehr voneinander abwichen; und auch hier machte es Schwierigkeiten, in dem einzelnen Fall konstante Werte innerhalb einer annehmbaren Zeit zu erzielen. Höber meinte, daß dies seinen Grund darin habe, daß die Hindurchleitung des Wasserstoffs eine Vertreibung der Kohlensäure des Blutes verursache, und dadurch eine Änderung der Reaktion während der Dauer der einzelnen Messung. Diese Änderung müsse in alkalischer Richtung stattfinden und um so größer werden, je vollständiger die Kohlensäurevertreibung sei.

1903 schlug Fränkel[1]) eine Methode vor, mittels der man die durch die Wasserstoffhindurchleitung verursachte Kohlensäurevertreibung vermeiden könne.

Fränkel benutzte zur Messung zwei Elektroden, die im voraus mit Wasserstoff gesättigt waren, und verwandte statt des Platins das stärkere wasserstoffabsorbierende Palladium. Fränkels Methode bedeutete einen Fortschritt. Seine Resultate ergaben, wie erwartet, eine geringere Alkalinität als Höbers; auch ihre Übereinstimmung untereinander war besser als wie man es bisher gesehen hatte, aber seine Methode gelangte nicht zur allgemeinen Verwendung, u. a. weil man nicht sicher sein konnte, daß die beiden Palladiumelektroden in dem Augenblick, wo sich die elektrometrische Konstanz einfand, im

[1]) Fränkel, Arch. f. d. ges. Physiol. 96, 1903.

gleichen Maße mit Wasserstoff gesättigt waren, was eine absolute Bedingung für die Verwendbarkeit der Methode ist. Genau konnte sie nicht werden, denn etwas Kohlensäure würde ja doch immer entweichen.

Im selben Jahre kam Farkas[1]) mit einem Vorschlag zu einer neuen Methode. Auch Farkas vermied die Wasserstoffhindurchleitung, indem er eine stehende Wasserstoffatmosphäre über dem Blut und wasserstoffgesättigte Platinelektroden anwendete. Farkas' Resultate ergaben eine noch geringere Alkalinität als frühere Messungen.

Indessen trat Höber[2]) mit neuen Resultaten hervor, die er durch eine sehr sinnreich erdachte und genau erprobte Methode erzielt hatte, wonach eine Mischung von Wasserstoff und Kohlensäure durch die Flüssigkeit (Blut oder Serum), die gemessen werden soll, geleitet wird. Dieser Vorschlag ist von großem Interesse; er bedeutet eine beträchtliche Verbesserung und ist auf alle Fälle ein rationell ersonnener Schritt nach der rechten Richtung hin. Deswegen sind Höbers Resultate auch interessant. Er ist der erste, der eine Kurve[3]) hergestellt hat, die die Abhängigkeit der Wasserstoffionenkonzentration von der Kohlensäurespannung im Blute angibt. Indem er die dem Wasserstoff zugesetzte Kohlensäure vermehrte, konstatierte er eine abnehmende Alkalinität des Blutes. Diese Kurve ist ganz analog mit den von Hasselbalch und Lundsgaard[4]) gefundenen (siehe die Tafel).

Die Werte für die Wasserstoffionenkonzentration im Blut, die Höber mittels Durchleitung der Menge Kohlensäure (ca. 5,5 Vol.-%), die bei seinen Versuchsbedingungen (Temperatur der Luftmischungen ca. 18° und mit Wasserdampf gesättigt) als einer Kohlensäurespannung von ca. 40 mm entsprechend betrachtet werden muß, stimmen einigermaßen überein mit den von Hasselbalch und Lundsgaard gefundenen Werten für das Blut gerade bei dieser Kohlensäurespannung.

Es ist nicht leicht zu verstehen, daß Botazzi geglaubt hat, alle Messungen Höbers mitnehmen zu müssen, ohne

---

[1]) Farkas, Arch. f. d. ges. Physiol. 98, 1903.
[2]) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 99, 1903.
[3]) R. Höber, l. c.
[4]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

Rücksicht auf die Kohlensäureprozente in der durchgeleiteten Luftmischung. Dadurch erhält man zu alkalische Werte für die Blutreaktion.

Höbers Methode hat indessen keine weitere Anwendung gefunden, obwohl sie auf einem rationellen Prinzip aufgebaut ist. Die Gründe hierfür sind verschiedener Natur. Teils bildet sich eine reichliche Menge Schaum[1]) im Elektrodengefäß und teils erfordert sie einen großen Apparat und ist recht unpraktisch.

Ferner scheint die vollständige Austreibung des Sauerstoffs, die ja eine Folge der Luftdurchleitung ist, eine quantitative Veränderung in dem Säurebindungsvermögen des Blutes zur Folge zu haben[2]).

Die folgenden Forscher, die sich mit der Elektrometrie des Blutes beschäftigten, arbeiteten auf der von Farkas geschaffenen Grundlage weiter. So erschien im Jahre 1906 eine Mitteilung von Szili[3]). Seine Resultate weisen eine noch größere Alkalinität auf als die von Fränkel und Farkas. Ein Übelstand stellte sich gleich bei Farkas' Methode (und bei anderen, die auf demselben Prinzip beruhen) heraus: es währt eine außerordentlich lange Zeit (bis zu 24 Stunden), ehe man eine Konstanz bei der Messung erzielt.

Da dies für die praktische Anwendbarkeit der Methode sehr viel zu bedeuten hat, versuchten Michaelis und Rona[4]) 1909, diese Schwierigkeit durch ihr sogenanntes „Prinzip des geringen Eintauchens" zu überwinden. Ihre voneinander sehr stark abweichenden Resultate zeigen eine noch größere Alkalescenz als die meisten Messungen der bisher angeführten Verfasser. Schon dies letztere deutet darauf hin, daß ihr Verfahren an einem ganz entschiedenen Fehler leidet. Denn es ist nicht zu erwarten, daß das „richtige" Maß für die Reaktion des Blutes — nur weil man schnell mißt — mehr alkalisch ausfallen sollte als bei den übrigen Methoden, die einen größeren oder geringeren Kohlensäureverlust im Gefolge haben. Nach-

---

[1]) Siehe z. B. G. C. Mathison, Journ. of Physiol. 43, 5, 1911.

[2]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

[3]) A. Szili, Arch. f. d. ges. Physiol. 115, 1906.

[4]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 18, 1909.

dem Michaelis und Ronas Methode von Hasselbalch[1]) einer eingehenden Kritik und Prüfung unterzogen ist, muß sie als ganz unanwendbar betrachtet werden. Hasselbalch zeigte nämlich, daß Michaelis und Ronas Methode eine ebenso lange Zeit zur Erlangung wirklicher Konstanz erfordert wie die älteren Methoden (z. B. Farkas' und Szilis). Und da stets eine gewisse, ganz unberechenbare Menge Kohlensäure entweichen wird, so wird das Endresultat immer zu alkalisch werden. Nach dieser Methode ausgeführte Messungen ergeben daher auch bei den einzelnen Versuchen eine sich beständig steigernde Alkalescenz, ehe der Wert erreicht wird, der als konstant betrachtet werden kann.

Indessen hat Hasselbalch[2]) eine neue Methode zur Elektrometrie des Blutes (und anderen kohlensäurehaltigen Flüssigkeiten) angegeben, eine Methode, die sehr leicht anwendbar und in hohem Maße zuverlässig ist. In bezug auf das Prinzip der Methode (der sog. Schaukelmethode) verweise ich auf die Originalabhandlung, wo auch die Versuche angeführt sind, durch die sich Hasselbalch von der Anwendbarkeit und der leichten Ausführung der Methode überzeugte. Mittels der Schaukelmethode wird sehr schnell Konstanz erlangt, und zwar ohne Kohlensäureverlust. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration geschieht gerade bei der Kohlensäurespannung, die das Blut hat, wenn es in das Elektrodengefäß hineingeführt wird.

Die Resultate, die durch Elektrometrie ad modum Hasselbalch erzielt sind, ergeben daher auch Werte für die Reaktion des Blutes, die teils bedeutend mehr nach der sauren Richtung hinneigen, als wie es die meisten der früheren Untersuchungen ergeben haben, teils eine weit größere Gleichartigkeit aufweisen.

Von Arbeiten, wo diese Methode Anwendung gefunden hat, liegen außer dieser hier folgende drei vor:

I. K. A. Hasselbalch, Elektrometrische Reaktionsbestimmung kohlensäurehaltiger Flüssigkeiten. Diese Zeitschr. **30**, 1910.

---

[1]) Hasselbalch, diese Zeitschr. **30**, 1910.

[2]) l. c.

II. **Hasselbalch** und **Lundsgaard**, Elektrometrische Reaktionsbestimmung des Blutes bei Körpertemperatur. Diese Zeitschr. **38**, 1912.

III. **Hasselbalch** und **Lundsgaard**, Blutreaktion und Lungenventilation. Skand. Arch. f. Physiol. **26**, 1912.

In Anbetracht der theoretischen Grundlage des Prinzips dieser Methode, in Anbetracht der kurzen Zeit (ca. 30 Minuten), die für eine Messung erforderlich ist, und in Anbetracht der Übereinstimmung der Resultate untereinander, kann man wohl mit Recht die absolute Suprematie der Schaukelmethode bei Elektrometrie der Blutreaktion anerkennen.

II.

Bei der Mehrzahl der vorliegenden Messungen der Reaktion des Blutes stammt das Material von Kaninchen, Ochsen, Pferden, Schafen und Menschen usw. in einer bunten Mischung. Wie bereits in der Einleitung angedeutet wurde, liegt die Möglichkeit vor, daß sich hier Fehler von beträchtlicher Bedeutung eingeschlichen haben. Denn es liegt doch kein Sinn darin, die Durchschnittszahl von einer zufälligen Anzahl von verschiedenen Messungen von verschiedenen Tieren aufzustellen, falls man nicht weiß, daß das Blut der verschiedenen Tierarten übereinstimmend reagiert. Ferner: Haben die verschiedenen Individuen innerhalb derselben Tierklasse dieselbe Reaktion des Blutes?

Ja, selbst wenn man sich an dasselbe Individuum hält, liegt alsdann irgendwelcher Sinn darin, von der Reaktion des Blutes zu reden? — Sicher nicht. — Denn von vornherein liegt kein Grund vor zu der Annahme, daß der Unterschied in bezug auf die Kohlensäurespannung, die in dem arteriellen und dem venösen Blut vorhanden ist, nicht einen Unterschied in bezug auf die Reaktion zur Folge haben sollte.

Es ist keineswegs überflüssig, die Bedeutung dieser Frage für die Aufgabe zu untersuchen: zuverlässige, vergleichbare Ausdrücke für die Reaktion des Blutes zu finden.

Höber[1]) hat darauf aufmerksam gemacht, daß wahrscheinlich ein meßbarer Unterschied zwischen der Reaktion des arteriellen und des venösen Blutes besteht, und Michaelis

[1]) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. **99**, 1903.

und Rona[1]) haben ihre Aufmerksamkeit auf denselben Punkt gerichtet, ohne daß es ihnen jedoch gelungen ist, den Unterschied durch ihre Methode nachzuweisen. Hasselbalch und Lundsgaard[2]) fanden durch Versuche in bezug auf die Reaktion des Blutes (und anderer kohlensäurehaltiger Flüssigkeiten) recht bedeutende Unterschiede in der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes durch Variationen in der Kohlensäurespannung, die die Unterschiede nicht überschreiten, die man in der Regel während eines Kreislaufes in dem Blute des tierischen Organismus antreffen wird.

Schon allein hieraus ergibt sich, daß man sich über eine bestimmte Methode für die Blutprobeentnahme einigen muß, wenn man vergleichbare Werte erzielen will.

Eine solche Methode ist von Hasselbalch und Lundsgaard[3]) angegeben, indem sie vorschlagen, alle Blutproben unter eine Kohlensäurespannung zu bringen, die der Spannung entspricht, die man in der Alveolarluft (bei dem betreffenden Individuum) findet. Dies stimmt nach Krogh[4]) einigermaßen überein mit der Kohlensäurespannung des Blutes in den großen Arterien. Durch dies Verfahren wird man also stets dahin gelangen, die Blutreaktion bei der arteriellen Kohlensäurespannung messen zu können.

Da nun ferner die Kohlensäurespannung der Alveolarluft bei normalen Menschen einigermaßen ein konstanter Wert ist (ca. 40 mm), so läßt sich die Forderung nach Gleichartigkeit offenbar befriedigen, indem man alle (von Menschen entnommene) Blutproben unter einen Kohlensäurepartialdruck von 40 mm stellt, vorausgesetzt, daß es sich um normale Individuen handelt.

Hat man bei einem anderen Werte als der alveolaren Kohlensäurespannung gemessen, so wird es erforderlich sein, auf diese reduzieren zu können. Dies kann durch graphische oder andere Interpolation geschehen. Man bildet sich nämlich eine Kurve, die die Reaktion des Blutes bei verschiedenen Kohlensäurespannungen angibt. Nach Hasselbalchs und

[1]) l. c.
[2]) l. c.
[3]) Diese Zeitschr. 30, 1910.
[4]) Krogh, Skand. Arch. f. Physiol. 23, 1910.

Lundsgaards Untersuchungen[1]) werden solche „Spannungskurven“ nicht in genau dasselbe Höhenniveau fallen (infolge der freilich sehr geringen Unterschiede, die sich in der Blutreaktion bei normalen Individuen innerhalb derselben Tierklasse vorfinden), aber ihr Verlauf wird fast vollkommen gleichartig ausfallen.

In derselben Abhandlung ist nachgewiesen, daß die Spannungskurve oder die Reduktionskurve, wie ich sie in dieser Verbindung nennen will, um so flacher läuft, je saurer das Blut ist. Gelangt man unterhalb des Neutralitätspunktes (bei 38,5°: $p_{H^{\cdot}} = 6,78$), so wird der Verlauf der Kurve so viel flacher, daß man Rücksicht darauf nehmen muß.

Im allgemeinen wird man wohl nicht häufig auf Werte für die H-Ionenkonzentration des Blutes stoßen, die außerhalb der Grenzen liegen, die bei den beigefügten Kurven[2]) von der Reaktion des Ochsenserums und 8,0 sek. Phosphat gebildet werden

Und — wie das aus der Figur ersichtlich ist — solange Werte innerhalb dieser Grenzen liegen, wird man keinen Fehler von Bedeutung begehen, wenn man eine Art „idealer“ Reduktionskurve benutzt, die als Durchschnitt aus den auf der Tafel angeführten Werten gebildet ist. Trifft man Blut, dessen Reaktion deutlich sauer ist, so muß man natürlich entweder bei einer CO_2-Spannung messen, die genau der der Alveolarluft entspricht, oder sich eine Reduktionskurve für diesen speziellen Fall bilden.

Ist es nun statthaft, arterielles und venöses Blut als (für unsere Zwecke) identisch zu betrachten, wenn es nur unter dieselbe CO_2- und O_2-Spannung gebracht ist? Wie man leicht sieht, ist es eine notwendige Bedingung, daß sich im Venenblut keine Produkte befinden, die durch ihre Verbrennung in der Lunge selbst Anlaß zu Reaktionsänderungen geben, über die hinaus, die ihren Grund in dem verschiedenen Kohlensäuregehalt in arteriellem und venösem Blut haben. Von vornherein ist wohl kaum Veranlassung, zu glauben, daß eine solche Bedingung nicht vorhanden sein sollte, und bei einer Durchsicht der Messungen, die hier im Laboratorium mit arteriellem und

---

[1]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

[2]) Siehe Fig. 1 auf S. 267.

venösem Blute von denselben Tieren vorgenommen sind, ist nirgends ein Unterschied in der Reaktion beobachtet worden, der zu der Annahme berechtigen könnte, daß ein solcher Prozeß in den Lungen vor sich geht. Es ist sicher durchaus erlaubt, venöses Blut als „arterielles" zu betrachten, wenn es unter dem alveolaren Kohlensäure- und Sauerstoffdruck[1]) der Lunge gemessen wird.

III.

Blut von verschiedenen Tierarten.

Bei den meisten der vorliegenden Messungen hat man ohne weiteres die Durchschnittszahl gebildet, die die Reaktion des Blutes ausdrücken sollte, ohne Rücksicht darauf zu nehmen, daß die verschiedenen Tierklassen möglicherweise eine verschiedene Reaktion des Blutes haben. — So hat, wie bereits erwähnt, Botazzi[2]) ohne weiteres eine Durchschnittszahl für die Reaktion des Blutes aufgestellt, obwohl die Messungen, von denen er ausgeht, von verschiedenen Tierklassen stammen. Es ist freilich in den Messungen, die zu Botazzis Verfügung standen, keine bestimmte Andeutung dafür vorhanden, daß man das Blut der verschiedenen Tierarten in Gruppen teilen kann. Seither sind indessen folgende Messungen mitgeteilt:

	p_H.	CO_2-Spannung in mm	Tp.	Die gemessene p_H. sind d. Durchschnitt der folgenden Zahl von Bestimmungen
Defibriniertes Ochsenblut[3])	7,36	40	38,5°	4
Hirudinisiertes Kaninchenblut[4])	7,33	Alv. CO_2-Spanng. recht stark schwankend, ungefähr 25 mm	38,5°	14
Hirudinisiertes Menschenblut[5])	7,19	40	38,0°	10

[1]) Die Bedeutung des Sauerstoffs ist jedoch so verschwindend bei dem hohen Drucke, daß es gleichgültig ist, ob man bei dem Sauerstoffdruck der Atmosphäre oder dem der Lunge mißt.

[2]) Botazzi, l. c.

[3]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

[4]) Hasselbalch und Lundsgaard, Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

[5]) Diese Abhandlung.

Wie man sieht, besteht eine schöne Übereinstimmung zwischen der Reaktion von Ochsenblut (bei 40 mm) und Kaninchenblut (bei alveolarer CO_2-Spannung), während die Zahl für die H-Ionenkonzentration des Menschenblutes einen beträchtlich saureren Wert aufweist. Es ist vielleicht nicht unberechtigt, die Ursache dieses Unterschiedes darin zu suchen, daß Ochsen und Kaninchen Pflanzenfresser sind, während der Mensch von gemischter Kost lebt.

Ein ganz entsprechendes Verhältnis besteht in bezug auf den Harn. Und ferner zeigt es sich, daß man während der Inanition Werte für den Harn der Pflanzenfresser finden kann, die dieselbe Acidität aufweisen wie die der Fleischesser[1]). Es würde höchst interessant sein, wenn man in bezug auf das Blut dieselbe Verschiebung in saurer Richtung während der Inanition finden könnte.

IV.

Die Reaktion verschiedener Blutbestandteile.

Bei Vergleichen zwischen verschiedenen Reaktionsmessungen muß man ferner Rücksicht darauf nehmen, ob die Messung an Blut oder Serum vorgenommen ist, denn die Reaktion dieser beiden Stoffe ist eine sehr verschiedene. Schon Fränkel[2]) hat einen solchen Unterschied nachgewiesen, indem er folgendes gefunden hat:

		p_H
Ochsenblut	Blut	7,02
	Serum	7,27
Schweineblut	Blut	6,96
	Serum	7,23

Wie man sieht, eine beträchtlich saurere Reaktion für das Blut als für das entsprechende Serum.

Michaelis und Rona[3]) geben an: Für das Blut $p_{H^\cdot} = 7,70$ bis 7,40 und für das Serum $p_{H^\cdot} = 8,44$ bis 7,70. Also auch diese Verfasser halten die Reaktion des Serums für alkalischer als die des entsprechenden Blutes. Hierin stimmen die meisten Schriftsteller überein.

Hasselbalch und Lundsgaard haben ausfindig gemacht, daß die H-Ionenkonzentration des Blutes größer ist als die eines Serums und geringer als die der isolierten Blutkörperchen:

---

[1]) Hamburger, Osmot. Druck- und Ionenlehre, Bd. II, 391, 1909.

[2]) Fränkel, Arch. f. d. ges. Physiol. 96, 1903.

[3]) Michaelis und Rona, diese Zeitschr. 18, 1909.

Ochsenblut: p_{H} bei 40 mm CO_2-Spannung und 38,5°.

a) Blutkörperchen . 7,04 b) Blut 7,45
Blut . . . . . 7,33 Serum 7,64
Serum 7,64

Sonderbar ist es, daß Höber[1]) einen Unterschied nach der entgegengesetzten Richtung gefunden hat. Er hat durch das Elektrodengefäß eine Mischung von Blut und Kohlensäure in verschiedenen Mengenverhältnissen geleitet und dabei beständig eine niedrigere Acidität für das Blut als für das Serum bei derselben Mischung der durchgeleiteten Luft gefunden.

Ich führe hier Höbers Messungen an: Ochsenblut bei ca. 18°. In der ersten und zweiten Kolonne ist das Volumenprozent des hindurchgeleiteten Blutes und der Kohlensäure angegeben:

H	CO_2	p_{H} im Blute	p_{H} im Serum
100,00	—	8,91	8,88
96,19	3,81	7,47	7,46
93,49	6,51	7,10	7,07
84,50	15,50	7,03	6,94
73,65	26,35	6,81	6,67
70,95	29,05	6,63	6,52
42,14	57,86	6,52	6,34

Der Unterschied, den man zwischen Höbers Untersuchungen und den der früher angeführten Schriftsteller findet, ist nicht leicht zu erklären. Hasselbalch hat die Ansicht geäußert, daß es möglicherweise eine Folge der vollständigen Austreibung des Sauerstoffs durch Höbers Methode ist, indem es sich nämlich herausgestellt hat, daß das Blut bei niedriger Sauerstoffspannung mehr Kohlensäure aufnimmt als bei höherer. Ein paar Versuche von H. und L.[2]) ergeben, daß die Reaktion des Blutes bei derselben Kohlensäurespannung mehr alkalisch bei der niedrigen als bei der größeren Sauerstoffspannung ist. Dies kann jedoch kaum die alleinige Ursache des Unterschiedes sein, denn in diesem Falle müßte man erwarten, daß Höber eine größere p_{H} für das Blut gefunden hätte als z. B. Hasselbalch und Lundsgaard. Aber Höbers Zahlen zeigen, daß er saureres Serum, nicht aber alkalischeres Blut gefunden hat.

---

[1]) R. Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 99, 1903.

[2]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

Es ist jedoch der Beachtung wert, daß Höber unter den Verhältnissen, die sich am meisten den natürlichen nähern (d. h. Durchleitung von 4 bis 6 vol.-%iger Kohlensäure) ungefähr die gleichen Zahlen für Blut und Serum findet.

Das Hauptergebnis von dem, was vorliegt, ist folgendes: Blut und Serum reagierten verschieden, so daß das Blut größere Acidität hat als das entsprechende Serum.

V.

Durch Elektrometrie des Blutes („Gesamtblut") soll die Koagulation verhindert werden. Dies geschieht bekanntlich durch Hirudinzusatz, wovon 1 mg hinreichend ist, um tagelang 5 ccm Blut flüssig zu erhalten. Bei Tierversuchen, wo das Blut direkt aus dem Gefäßsystem genommen wird, kann das Hirudin (50 mg per Kilo Körpergewicht) langsam in das Blut eingeführt werden als eine Emulsion in 0,9%iger NaCl-Lösung. Bei Versuchen mit Menschenblut läßt man dies in ein Gefäß ausströmen, in dem sich die erforderliche Hirudinmenge als kleine Körner an den Seiten und auf dem Boden des Glases absetzt. Hirudin verträgt keine Feuchtigkeit und Wärme, hält sich aber im übrigen gut.

Eine Bedingung für seine Verwendung ist, daß es keinen Einfluß auf die Blutreaktion hat. Nach allem, was vorliegt, scheint dies nicht der Fall zu sein. Die Versuche in dem hiesigen Laboratorium sind in dieser Beziehung überzeugend gewesen. Höber wie auch Michaelis und Rona sind derselben Ansicht.

Eine andere Methode besteht darin, das Blut zu defibrinieren. Dies Verfahren ist namentlich da anzuwenden, wo man größere Blutmengen zur Verfügung hat. Nichts deutet darauf hin, daß dieser Prozeß die Reaktion des Blutes verändert. Höber[1]) hat folgende Versuche gemacht, die die Identität von hirudiniertem und defibriniertem Blut beweisen.

Kaninchenblut bei ca. 18°. Es ist durch das Blut eine Mischung von Wasserstoff und Kohlensäure geleitet.

H	CO_2	$p_{H^\cdot}$	
90,52	9,48	7,01	defibriniert.
90,52	9,48	7,02	hirudiniert.

[1]) Höber, Arch. f. d. ges. Physiol. 99, 1903.

Hundeblut.

H	CO_2	$p_{H^{\cdot}}$	
93,09	6,91	7,07	defibriniert.
93,09	6,91	7,07	hirudiniert.

Es ist von Wert in dieser Verbindung, anzuführen, daß defibriniertes Ochsenblut und hirudiniertes Kaninchenblut (beide Tiere Pflanzenfresser) dieselbe Reaktion ergeben. Es darf daher als statthaft angesehen werden, Messungen von defibriniertem und hirudiniertem Blut zu vergleichen.

VI.

Der Einfluß der Temperatur auf die Reaktion.

Henderson[1]) hat theoretisch berechnet, daß eine Temperaturerhöhung von 18° auf 38° eine Steigerung der OH-Ionenkonzentration des Blutes auf das dreifache im Gefolge hat, während die H-Ionenkonzentration nur unbedeutend steigt. Den Grund hierzu muß man darin suchen, daß die Dissoziationskonstante des Wassers[2]) weit stärker mit der Temperatur ansteigt als die der Kohlensäure. Die Richtigkeit dieser Betrachtungen ist experimentell von Henderson[3]), sowie von Michaelis und Rona[4]) nachgewiesen. Sie haben mittels Messungen von Hundeserum folgendes gefunden:

Temp.	$C_{OH'} \cdot 10^{-7}$	$C_{H^{\cdot}} \cdot 10^{-7}$	($p_{H^{\cdot}}$)
21°	4,0	0,20	(7,70)
32°	6,7	0,27	(7,57)
38°	8,1	0,32	(7,50)
42°	9,1	0,35	(7,46)
48°	12,0	0,40	(7,40)
52°	12,0	0,49	(7,31)
21°	2,6	0,31	(7,51)

Aus dieser Tabelle ist deutlich zu ersehen, daß man nicht ohne weiteres die Reaktionsmessungen, die bei verschiedenen Temperaturen ausgeführt sind, miteinander vergleichen kann, ohne Rücksicht auf diesen Einfluß zu nehmen. Besonders groß

---

[1]) Henderson, Asher Spiro, Ergebn. d. Physiol. 8, 1909.

[2]) Lundén, Journ. de Chém. phys. 5, 1907.

[3]) l. c.

[4]) l. c.

wird der Fehler, wenn man die Reaktion durch den OH-Ioneninhalt des Blutes ausdrückt, bedeutend kleiner, wenn man die H-Ionenkonzentration benutzt.

Die meisten Messungen sind bei 18° ausgeführt, da dies in der Regel das bequemste ist. Es wird jedoch zweifelsohne das Richtigste sein, aus Rücksicht auf die Vergleichbarkeit die Messungen immer bei Körpertemperatur auszuführen, was sich sehr leicht bewerkstelligen läßt, wenn das ganze Instrumentarium in einem Thermostat angebracht wird. Bei Tierversuchen, wo das Blut eventuell wieder in das Tier zurückgeleitet wird, ist dies die leichteste und praktischste Methode.

Unter allen Umständen muß die Messungstemperatur bei der Schätzung des Resultates mit in Betracht gezogen werden.

VII.

Die Bedeutung der Zeit, die von dem Augenblick an vergeht, wo das Blut herausgenommen wird und bis es gemessen ist, ist bereits früher zum Gegenstand von Erwägungen und Versuchen gemacht worden. Die meisten Schriftsteller sind sich darin einig, daß sich die Reaktion nicht durch Aufbewahrung während 2 bis 3 Tage verändert. Hier im Laboratorium ist das Blut während dieser Periode immer auf Eis aufbewahrt, und wir haben innerhalb der ersten 72 Stunden niemals eine Veränderung beobachtet.

Beispielsweise können folgende Messungen angeführt werden.

Defibriniertes Ochsenblut:

Datum	Alter (Stunden)	CO_2 mm	Temp.	p_H.
29. VIII.	ca. 20	40	38°	7,42
30. VIII.	ca. 48	40	38°	7,39

Der Unterschied übersteigt nicht den Fehler (± 7 % der H-Ionenkonzentration), auf den man gefaßt sein konnte[1]).

Es muß als statthaft angesehen werden, die Reaktion des Blutes von verschiedenem Alter zu vergleichen, falls dies nicht 3 Tage überschreitet und das Blut während dieser Periode auf Eis aufbewahrt wird.

[1]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

Das Verfahren bei der Messung der Reaktion von Menschenblut.

In Übereinstimmung mit den vorausgehenden Betrachtungen wird folgendes vorgeschlagen:

Das Blut wird einer Cubital- oder Unterarmvene[1]) entnommen, nachdem um den Oberarm eine Esmarch-Binde angelegt ist. Man läßt ungefähr 30 ccm in ein Glas strömen, auf dessen Boden und an dessen Seiten sich die erforderliche Menge Hirudin (6 bis 7 mg) als kleine Körnchen abgesetzt hat. Bis die Messung vorgenommen wird, kann das Blut auf Eis aufbewahrt werden (bis zu 72 Stunden). Die Messung wird mittels Hasselbalchs Schaukelmethode vorgenommen, nachdem das Blut:

1. bis zu 38° erwärmt worden ist;
2. mit CO_2 unter 40 mm Spannung und bei 38° gesättigt ist;
3. mit Wasserdampf von derselben Temperatur gesättigt ist (was dadurch bewerkstelligt wird, daß die Luftmischung auf dem Wege vom Spirometer eine Flasche mit Wasser passiert).

Die Messung geschieht im Thermostat (bei 38°). Eine einzelne Erneuerung des Blutes im Elektrodengefäß wird hinreichend sein (wenn das Elektrodengefäß nach der von Hasselbalch und Lundsgaard vorgeschlagenen Modifikation eingerichtet ist[2]). Das Ablesen der elektromotorischen Kraft darf nicht zu lange nach dem Schaukeln geschehen, da die Blutkörperchen in diesem Falle in dem Gefäß auf den Boden sinken, fort von der Elektrode, die dann nur in das Plasma hineintaucht. Dadurch erhält man zu alkalische Werte (vgl. Abschnitt IV). Indessen kann man den richtigen Wert erhalten, wenn man das Elektrodengefäß ein paarmal schaukelt und dann, gerade nachdem die Flüssigkeit zur Ruhe gekommen ist, mißt.

Hat man das Blut nicht mit CO_2 unter 40 mm Spannung gesättigt, so muß man hierauf reduzieren (oder auf den alveolaren Druck, falls dieser wesentlich von 40 mm abweicht). Diese

---

[1]) In gewissen Fällen bringen es die Verhältnisse natürlich mit sich, daß man sich Blut auf andere Weise verschaffen kann, z. B. indem man es bei zufälligen Aderlassungen gewinnt, oder auch es dem Nabelstrang entnimmt.

[2]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

Reduktion kann, wie bereits erwähnt, mit Hilfe einer Reduktionskurve (siehe Abschnitt II) ausgeführt werden, oder man kann bei verschiedener Spannung auf beiden Seiten der alveolaren CO_2-Spannung messen und dann mit Hilfe dieser beiden Werte bis zu dem richtigen interpolieren.

Mittels dieses Verfahrens habe ich folgende Werte für (normales) Menschenblut gefunden:

Nr.	Datum 1911	Größe der CO_2-Sp., unter der das Blut gemessen ist mm	$p_{H^\cdot}$ gemessen	$p_{H^\cdot}$ ad 40 mm reduziert	Stunden nach Entnahme des Blutes	Anmerkungen
1	14. VIII.	33	7,19	7,16	$1^1/_2$	C. A. F. ♂ Lupus faciei.
2	16. VIII.	30	7,23	7,18	5	Gebährende. Das Blut gleich nach der Geburt des Kindes dem maternellen Ende des Nabelstranges entnommen.[1])
3	17. VIII.	34	7,26	7,22	3	B. J., ♀ 17 Jahre Lupus faciei.
4	18. VIII.	28	7,30	7,23	2	C. R., ♂ 18 Jahre. Ulcus cruris.
5	19. VIII.	31	7,25	7,20	1	A. S. ♂ 60 Jahre. Tuberculosis faciei.
6	21. VIII.	28	7,22	7,16	52	U. N. ♂ 17 Jahre. Exzema solare.
7	22. VIII.	24	7,23	7,13	$2^1/_4$	J. J. ♂ 18 Jahre. Lupus faciei.
8	25. VIII.	33	7,19	7,16	26	L. R. ♀ 29 Jahre Lupus faciei; behandelt mit Jodkalium.
9	5. IX.	26	7,27	7,19	2	M. P. ♀ 29 Jahre. Lupus faciei.
10	6. IX.	42	7,23	7,24	$28^1/_2$	P. J. ♂ 18 Jahre. Lupus faciei.

Durchschnitt 7,19 bei 40 mm CO_2-Spannung und 38°.

Die Reaktion des normalen Menschenblutes ist konstant, neigt ein wenig nach der alkalischen Seite des Neutralitätspunktes und kann auf $p_{H^\cdot} = 7{,}19$ veranschlagt werden.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, sind die Messungen bei verschiedenen CO_2-Spannungen (variierend zwischen 24 mm und 42 mm) vorgenommen.

Während der Arbeit selbst wurde es mir klar, daß es notwendig sein würde, den Wert für $p_{H^\cdot}$ auf dieselbe CO_2-Spannung zu reduzieren und, infolge der voraufgehenden Betrachtungen, auf 40 mm. Hierzu war eine Reduktionskurve erforderlich.

[1]) Eigentlich ist es ja das Blut des Foetus, dessen Reaktion bei diesem Verfahren gemessen wird.

Eine solche Bestimmung von p_{H}· in Menschenblut bei variierender CO_2-Spannung ergab folgendes Resultat:

Datum: 5. IX. Temp. 38°.

CO_2 mm	p_{H}·
17	7,35
26	7,27
58	7,11

Eine graphische Darstellung dieser Werte ergibt eine Kurve (siehe Fig. 1), die denselben Verlauf hat, wie die von Hasselbalch und Lundsgaard[1]) dargestellten Spannungskurven bei Ochsenblut. Ich hegte deswegen kein Bedenken, diese als Reduktionskurve zu verwenden. Die Reduktion ist graphisch ausgeführt und die Werte sind in die Tabellen eingetragen.

Die Individuen, von denen das Blut entnommen ist, sind allerdings „krank“ gewesen. Aber ihre Leiden und die instituierte Therapie[2]) waren derartig, daß kein Grund zu einer Annahme von Reaktionsveränderungen im Blute vorlag. Diese Annahme wird noch bestärkt durch die Übereinstimmung der einzelnen Resultate untereinander, die durchaus als gesetzmäßig betrachtet werden muß.

Stellt man die Resultate nach den Geschlechtern in zwei Gruppen auf, so erhält man — wie sich das erwarten läßt — dieselbe Zahl. Zufälligerweise fällt der Durchschnitt genau zusammen (Fall 2 — „Gebährende“ nicht mitgenommen —, siehe Fußnote S. 265).

	p_{H}·	p_{H}·
	♂ 7,24	♀ 7,19
	7,13	7,16
	7,16	7,22
	7,20	—
	7,23	—
	7,16	—
Durchschnitt p_{H}·	♂ 7,19	♀ 7,19

[1]) Hasselbalch und Lundsgaard, diese Zeitschr. 38, 1912.

[2]) Sämtliche Patienten (Nr. 2 ausgenommen) sind in der dermatologischen Abteilung des Finsen-Instituts ambulatorisch behandelt. Nr. 8 hat Jodkalium bekommen; alle anderen sind mit keinem inneren Medikament behandelt; und in keinem Falle ist eine solche physikalische Therapie instituiert, die auf der Blutreaktion oder jedenfalls auf der alv. CO_2-Spannung influieren könne (z. B. universelle Lichtbäder oder Inhalationsübungen).

Schluß.

Ich gebe mich der Hoffnung hin, daß diese kleine Abhandlung dazu beitragen wird, die Bedingungen zu präzisieren, die man an die Blutreaktionsmessungen stellen muß, wenn man kommensurable Werte zu gewinnen wünscht.

Ich bin ferner davon überzeugt, daß die Feststellung der Reaktion des normalen Menschenblutes von Bedeutung sein wird für eine weitere Bearbeitung der Reaktion des pathologischen Blutes, für die Aufklärung der Pathogenese gewisser Krankheiten und für ein genaueres Verständnis in bezug auf die Wirkung gewisser Medikamente.

Die beigefügte Figur wird für das Verständnis von Wert sein. Die Kurven stammen mit einer einzigen Ausnahme aus einer von Hasselbalch und Lundsgaard in dieser Zeitschr. 38, 1912 veröffentlichten Arbeit.

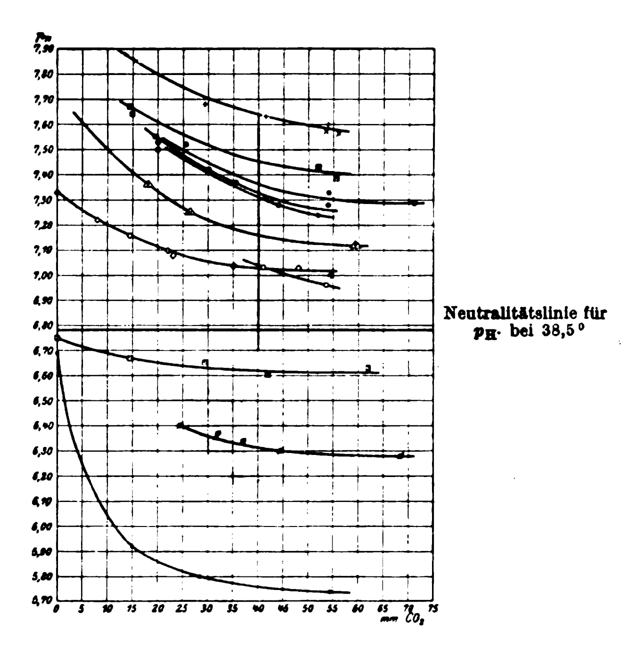


Fig. 1.

⊕ Blut, + Serum, ○ Blutkörperchen vom 23. III. — ⊠ Blut, × Serum vom 17. III. — ⊗ Blut vom 24. II. — ⊘ Blut vom 29. VIII. ∅ Dasselbe mit Essigsäure versetzt. — ◇ 8,0 sek. Phosphat. — ⊡ 5,0 sek. Phosphat. — ● $^n/_{10}$-Kaliumchlorid. — ⁄x⁀ Menschenblut (Reduktionskurve). 5. IX. 1911.

Über die Wasserbilanz während der Ruhe und bei der Anstrengung im Hochgebirge.

Von

G. Galeotti und E. Signorelli.

(Aus dem Institut für allgemeine Pathologie der K. Universität Neapel und aus dem Physiologischen Institut „Angelo Mosso" am Col d'Olen.)

(Eingegangen am 19. April 1912.)

Der Austausch des Wassers unter verschiedenen Bedingungen des Organismus ist ein Thema, das noch nicht in erschöpfender Weise behandelt worden ist. In der Literatur finden sich verschiedenartige Angaben, die Bezug haben auf die Einführung des Wassers als solches mit den Speisen und Getränken, die Erzeugung desselben durch die Oxydationsvorgänge des Organismus, die Ausscheidung des Wassers durch die verschiedenen Ausscheidungssysteme und die Bedeutung dieser Ausscheidung für die Wärmeregulierung. Man hat aber selten versucht, eine vollständige Bilanz des Wassers in der Ruhe und bei der Anstrengung aufzustellen.

Die Wassereinführung ist so verschieden bei den verschiedenen Personen und in den verschiedenen Momenten des Lebens, daß es unmöglich ist, zuverlässige Zahlen als Normalmittel festzustellen.

Förster[1]) fand bei einigen in München an verschiedenen Individuen gemachten Beobachtungen, daß das Mittel der eingeführten Flüssigkeiten zwischen 2300 und 3560 ccm schwankte. Atwater und Benedict[2]) erhielten Zahlen zwischen 880 und 2240 an Ruhetagen und zwischen 2225 und 4450 an Tagen der Anstrengung.

---

[1]) Förster, Beiträge zur Ernährungsfrage. Zeitschr. f. Biol. **9**, 381, 1873.

[2]) Atwater and Benedict, Experiments on metabolism of matter and energy. U. S. Dep. of Agric. Bull. **139**, 1903.

Was die bei den Oxydationssporen erzeugte Wassermenge anbetrifft, fand Voit[1]) beim Hungern 228 g täglich, in der Ruhe und bei mittlerer Ernährung 360 g, bei Anstrengung 468 g. Atwater und Benedict konstatierten in der Ruhe 270 g und bei Anstrengung 451 g.

Hinsichtlich der Ausscheidung des Wassers wollen wir vor allem die Zahlen Voits anführen, aus dessen Untersuchungen sich ergab:

	in der Ruhe	bei Anstrengung
Ausscheidung des Wassers durch die Niere .	1212 g	1155 g
" " " " den Darm	110 g	77 g
" " " " die Haut .	931 g	1727 g
Total	2253 g	2959 g

in 24 Stunden.

Loewy[2]) sagt hinsichtlich der Verteilung des Wassers in den verschiedenen Exkreten, daß die mit den Faeces ausgeschiedene Wassermenge zwischen 60 und 120 g täglich während einer in bezug auf Qualität und Quantität mittleren Ernährung schwankt. Werden die Faeces halbfest oder flüssig, so steigt diese Menge sehr an; bei Vegetariern können mit den Faeces auch 300 g Wasser täglich ausgeschieden werden. Die Harnmenge ist stets veränderlich und hängt nicht nur von den Getränken, sondern auch von der Menge des Schweißes ab, der erzeugt worden ist.

Das durch Haut und Lungen ausgeschiedene Wasser variiert aus verschiedenen Gründen. Als normale Daten fanden Pettenkofer und Voit[3]) Zahlen zwischen 680 und 1200 und im Mittel 931 g in 24 Stunden. Atwater und Benedict fanden 935 g in 24 Stunden.

Während der Abeit und bei ziemlich hoher Temperatur steigen diese Zahlen auf 1500 bis 3000 g nach Zuntz und Schumberg[4]), nach Atwater im Durchschnitt auf 2839 g. Ausnahmsweise wurden auch Wasserverluste von 7500 g konstatiert. Langlois und Boissaquet[5]) haben beim Menschen den Wasserverlust bestimmt, den der Körper während einer mühsamen Arbeit (Radfahren) und unter verschiedener Temperatur — Feuchtigkeits- und Windverhältnisse — erlitt. Diese Verluste betrugen, wie sich ergab, 200 g und bis zu 2500 g pro Stunde.

Indem wir auf die Zahl zurückkommen, die mit großer Annäherung den Wasserverlust durch Lungen und Haut ergibt, nämlich 930 g, wollen

[1]) Voit, Die Ernährung. Hermanns Handbuch der Physiol. 6, 1, 350, 1881.

[2]) Loewy, Physiologie des Stoffwechsels. Noordens Handb. 1, 424, 1906.

[3]) Pettenkofer und Voit, Untersuchungen über den Stoffverbrauch des normalen Menschen. Zeitschr. f. Biol. 2, 459, 1866.

[4]) Zuntz und Schumberg, Physiologie des Menschen. Berlin 1910, S. 190.

[5]) Langlois et Boissaquet, Les pertes d'eau pendant le travail suivant les variations du milieu ambiant. Compt. rend. 69, 53, 1910.

wir noch bemerken, daß ca. 530 g davon die Hautverdunstung und 400 g die Lungenatmung betreffen. Die erste Zahl scheint durch direkte Untersuchungen von Schierbeck[1]) und Willebrandt[2]) bestätigt zu sein; dennoch läßt sich kein bestimmter Wert für sie angeben, weil zu viele individuelle Bedingungen und solche der Umgebung vorhanden sind, die dazu dienen, die perspiratorische Funktion der Haut zu ändern. Die zweite Zahl ist das Ergebnis einer einfachen Berechnung, wobei die ausgeatmete Luft als mit Wasser gesättigt betrachtet wird [Rosenthal[3])], was in Wirklichkeit nicht der Fall ist.

Zuntz, Loewy, Müller und Caspari[4]) berechnen aus den Gewichtsschwankungen des Körpers, indem sie die Einführung von Speisen und Getränken, sowie die Ausscheidungen von Faeces und Harn und den Verlust von Stoffen auf dem Lungenwege berücksichtigen, die Hautverdunstung innerhalb 24 Stunden auf 1429 g. Die Ausscheidung des Wasserdampfes mit der ausgeatmeten Luft soll in 24 Stunden 366 g betragen. Diese Zahl ist aus der Lungenventilation berechnet, wobei gewöhnlich die ausgeatmete Luft als mit Wasser gesättigt betrachtet und die Feuchtigkeit der eingeatmeten Luft berücksichtigt wird.

Aus direkten Bestimmungen Rubners[5]) ergab sich, daß das bei der Atmung ausgestoßene Wasser ebenfalls aus verschiedenen Gründen und namentlich je nach der Intensität der Ventilation variiert. Als Mittel gibt er die Zahl 408 g in 24 Stunden an, während dagegen Vierordt die Zahl 330 g angibt.

Hinsichtlich der klimatischen Einflüsse, welche die Wasserausscheidung durch Haut und Lungen betreffen, finden wir die folgenden weiteren Angaben [Rubner[6]), Rubner und Lewaschew[7])]:

Temperatur der Umgebung	15°	20°	25°	30°	35°	40°
pro Std. ausgeatmetes Wasser:	g	g	g	g	g	g
in Luft von mittlerer Feuchtigkeit	28	19	23	43	84	112
in sehr trockener Luft . .	36	54	75	105	—	—
in sehr feuchter Luft . .	9	15	24	—	—	—

[1]) Schirbeck, Die CO_2- und H_2O-Ausscheidung der Haut. Arch. f. Anat. u. Phys., Phys. Abt. **1893**, S. 116.

[2]) Willebrandt, Über die CO_2- und H_2O-Ausscheidung durch die Haut des Menschen. Skand. Arch. f. Physiol. **13**, 337, 1903.

[3]) Rosenthal, Physiologie der tierischen Wärme. Hermanns Handbuch der Physiol. **1882**, 376.

[4]) Zuntz, Loewy, Müller und Caspari, Höhenklima und Bergwanderungen. Bengell 1906, S. 378ff.

[5]) Rubner, Notiz über die Wasserdampfausscheidung durch die Lunge. Arch. f. Hygiene **33**, 151, 1898.

[6]) l. c.

[7]) Rubner und Lewaschew, Über der Einfluß der Feuchtigkeitsschwankungen unbenutzter Luft. Arch. f. Hygiene **38**, 120.

Die Besonnung erhöht nach Rubner und Cramer[1]) die Hautausdünstung sehr.

Der Einfluß der Anstrengung wurde insbesondere von Wolpert[2]) studiert, der unter verschiedenen Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen eine Ausscheidung von 42 g Wasser pro Stunde und während einer Arbeit von 15000 kgm 116 g pro Stunde fand.

Vollständige Wasserbilanzen sind selten aufgestellt worden. Wir wollen nur einige Daten aus einer bekannten Monographie Atwaters[3]) anführen:

Wasserbilanz.

	Versuchsperson	Einnahmen			Ausgaben			
		Wasser in den Speisen	Wasser der Getränke	Insgesamt	Wasser in den Faeces	Wasser im Harn	Wasser in der Hautausdünstung und bei der Atmung	Insgesamt
Experimente im Ruhezustand	E. O.	1037	1407	2444	59	1808	877	2844
	A. W. S. . . .	890	1385	2275	46	1742	859	2647
	J. F. S.	1055	833	1888	52	1220	830	2102
	J. C. V.	922	1000	1922	75	1344	881	2323
	Mitttel aus 14 Experimenten .	1022	1267	2259	58	1660	935	2653
Experimente während der Anstrengung	E. O.	1168	1603	2771	96	1011	2275	3382
	J. F. S.	975	1250	2225	52	905	1670	2627
	J. C. W. . . .	1921	2329	4250	156	1493	3255	4904
	Mittel aus 20 Experimenten .	1658	2045	3703	130	1328	2848	4306

Am Ende seiner Tabellen bemerkt Atwater, diese Bilanz sei nicht vollständig und es fehlten zwei Faktoren, nämlich einerseits die infolge der Oxydationsvorgänge im Organismus erzeugte Wassermenge und anderseits das im Verdauungskanal, in den Geweben und Flüssigkeiten des Organismus zurückbleibende Wasser. Der Autor fügt jedoch hinzu, diese Faktoren könnten wegen des Mangels an genauen diesbezüglichen Angaben nicht in befriedigender Weise in Betracht gezogen werden.

Die Untersuchungen, welche wir nun beschreiben wollen, wurden in Neapel in Meereshöhe und im Ruhezustand, sowie

---

[1]) Rubner und Cramer, Über den Einfluß der Sonnenstrahlung auf Stoffzersetzung. Arch. f. Hygiene **20**, 345.

[2]) Wolpert, Die CO_2- und H_2O-Dampfausscheidung des Menschen bei Arbeit und Ruhe. Arch. f. Hygiene **26**, 86, 1896.

[3]) Atwater, Neue Versuche über Kraft und Stoffwechsel im menschlichen Körper. Ergebnisse der Phys. **1**, **2**, 497, Jahrg. 3.

am Col d'Olen (3000 m über dem Meere) im Ruhezustand und während mehr oder minder anstrengender Bergbesteigungen, endlich an der Margheritahütte (4600 m über dem Meere) während der Ruhe ausgeführt.

Wir konnten nicht alle beide die nämlichen Gruppen von Untersuchungen machen; was Galeotti betrifft, so fehlen die Daten eines Aufenthalts im Ruhezustand an der Margheritahütte, und bei Signorelli die von Tagen der Anstrengung und der Ruhe am Col d'Olen. Im nächsten Sommer gedenken wir unsere Versuche wieder aufzunehmen und die fehlenden Angaben zu ergänzen.

Ferner müssen wir bemerken, daß diese Untersuchungen über die Wasserbilanz angestellt wurden, um eine eingehendere Arbeit zu vervollständigen, die einer von uns bezüglich der Menge des bei der Atmung ausgeschiedenen Wassers eben ausführt. Hier geben wir in dieser Hinsicht nur einige allgemeine Zahlen an und verweisen den Leser bezüglich aller technischen Einzelheiten auf die eben erwähnte Arbeit, die binnen kurzem erscheinen wird.

Der Wasseraustausch ist so intim an die Gesamtheit der funktionellen und strukturellen Verhältnisse unseres Organismus gebunden, daß es unmöglich ist, eine Bilanz dieses Elementes aufzustellen, indem man nur das als solches eingeführte und das durch Nieren, Darm, Lungen und Haut ausgeschiedene Wasser berücksichtigt. Die oben angeführte Beobachtung Atwaters ist sehr richtig, und deshalb sind die bis jetzt aufgestellten Bilanzen sehr unvollständig und können keine genaue Vorstellung von der Verteilung des Wassers bei den in unserem Körper sich vollziehenden Austauschvorgängen geben.

Wir glaubten, um die Wasserbilanz genau zu formulieren, müsse man die vollständige Bilanz der Stoffe unseres Organismus berücksichtigen, indem man das Körpergewicht bei Beginn und am Ende eines jeden experimentellen Zeitabschnittes als feste Punkte betrachtet und in der Kolumne der Einnahmen jedes Gewicht eines eingeführten Stoffes und in der Kolumne der Ausgaben jedes Gewicht eines ausgeschiedenen Stoffes einträgt. Es genügt, wenn man in gesonderten Kolumnen die Zahlen bringt, welche sich auf das Wasser beziehen, um seine Bilanz hervorzuheben. Dieses ist das System, das wir bei der weiter unten

gegebenen Tabelle befolgt haben. Nun müssen wir bezüglich der verschiedenen Kapitel der so zusammengestellten Bilanz noch die folgenden Angaben machen.

1. Körpergewicht bei Beginn und am Ende der 24 Stunden, welche der Versuch dauerte. Es gibt Wagen, welche das Körpergewicht mit großer Genauigkeit bestimmen, und an der Margheritahütte befindet sich eine, welche dieses Gewicht mit einem Fehler von ca. 10 g angibt. In Neapel aber und am Col d'Olen mußten wir uns einer gewöhnlichen Wage bedienen, die keine geringeren Unterschiede als 100 g ergab. Dies ist also die Fehlergrenze bei unseren Bilanzen. Die Wägungen fanden morgens statt, nachdem Blase und Rectum entleert waren.

Es ist zu bemerken, daß das Körpergewicht unter Bedingungen der Ruhe und bei ungefähr konstanter Diät nur leicht von einem Tag zum andern schwankt (Bischoff und Voit[1]). Dagegen sind die Schwankungen beträchtlich und können einige Kilogramm betragen nach langen Gebirgswanderungen (Atwater und Benedict).

2. Wasser der Getränke. Es wurde volumetrisch und mit hinreichender Genauigkeit gemessen. Die Menge der Getränke (Wasser, wenig Wein, Tee) war nicht beschränkt, sondern der Durst wurde immer vollständig gelöscht.

3. In den festen Speisen enthaltenes Wasser. Wenn das Gewicht der verschiedenen Speisen bekannt war, wurde das Wasser nach den Tabellen berechnet, die sich im Lehrbuch von Gautier[2]) befinden.

4. Wasser, das sich durch die Oxydation der Nahrungsmittel gebildet hat. Die Berechnung behufs Auffindung dieser Menge ergibt ein genaues Resultat für die Kohlenhydrate, die 55,5 % ihres Gewichts liefern. Viel komplizierter gestalten sich die Dinge hinsichtlich der Eiweißkörper und Fette, welche Stoffe in bezug auf ihre Gehalte an Sauerstoff und Wasserstoff eine veränderliche Zusammensetzung haben. Ferner ergeben die Eiweißkörper Zwischenprodukte, die nicht ganz oxydiert sind. Bei unserer Berechnung haben

---

[1]) Bischoff und Voit, Die Gesetze der Ernährung des Fleischfressers. Leipzig 1860, S. 207.

[2]) Gautier, L'alimentation et les régimes. Paris, Masson, 1908.

wir eine mittlere Zusammensetzung der Proteine angenommen und aus dieser die Wassermenge, die sich bilden kann, gefolgert, indem wir von der totalen Wasserstoffmenge ausgingen und den Wasserstoff abzogen, der zur Sättigung des Stickstoffes bei Bildung des Ammoniaks nötig ist.

Auf diese Weise ergab sich uns, daß sich aus 100 g Eiweißkörpern ungefähr 39 g Wasser bilden lassen, eine Zahl, die etwas von der von Loewy angegebenen (41,3 %) abweicht. Hinsichtlich der Fette sind wir von einem mittleren Wasserstoffgehalt ausgegangen und haben auf diese Weise berechnet, daß 100 g Fette 112 g Wasser liefern (Loewy gibt in dieser Hinsicht die Zahl 117,4 % an).

Was die Quantität und Qualität der eingeführten Speisen anbelangt, ist zu bemerken, daß Signorelli eine konstante Diät innehielt, weil er gleichzeitig noch andere Untersuchungen anstellte. Er nahm zu sich:

	in der Margheritahütte	in Neapel
rohe Proteine . . .	109 g	87 g
Kohlenhydrate . .	285 g	339 g
Fette	84 g	74 g

Galeotti hielt keine konstante Diät ein und nahm zu sich:

	am Col d'Olen	in Neapel
rohe Proteine	80—105 g	91—103 g
Kohlenhydrate . . .	419—564 g	362—388 g
Fette	48—60 g	65—73 g

5. Rückstand der festen Speisen. Er wurde berechnet, indem von ihrem Gesamtgewicht das Quellungswasser und das Oxydationswasser abgezogen wurden.

6. Absorbierter Sauerstoff. Dieser erscheint dann zum großen Teil wieder in der Kolumne der Ausgaben mit dem Gewicht des Kohlensäureanhydrids. Seine Menge in 24 Stunden läßt sich nicht mit großer Annäherung bestimmen, da sie ja unter den verschiedenen Bedingungen des Organismus, im Zustand des Wachens oder des Schlafes, des Hungerns oder der Nahrungsaufnahme, der Ruhe oder Arbeit beträchtlich schwankt. Es wäre nötig gewesen während des Vorhandenseins dieser

verschiedenen Bedingungen viele Bestimmungen im Laufe des Tages zu machen. Bei den im folgenden geschilderten Versuchen konnten wir derartige Bestimmungen des respiratorischen Stoffwechsels nicht machen, weshalb wir die Mittel des Sauerstoffverbrauches angenommen haben, die Zuntz und Durig[1]) aus zahlreichen Experimenten gewannen, welche sie in Meereshöhe, am Col d'Olen, an der Margheritahütte und im Zustand der Ruhe oder der Arbeit machten. Die erwähnten Autoren geben in ihren Tabellen den Sauerstoffverbrauch in Kubikzentimeter und pro Minute an. Daraus haben wir den Sauerstoffverbrauch pro Stunde in Gramm berechnet, indem wir als Gewicht eines Liters Sauerstoff (bei 0° und 760) 1,43 g annahmen.

	Pro Minute verbrauchter O_2 ccm	Pro Stunde verbrauchter O_2 g
In Meereshöhe und am Col d'Olen in der Ruhe	230	19,7
In Meereshöhe und am Col d'Olen während einer mäßigen Bewegung	860	73,8
In der Margheritahütte in der Ruhe	270	23,0
In der Margheritahütte während einer mäßigen Bewegung .	1100	94,4
Während der Anstrengung im Gebirge	1200	188,7

7. Das Gewicht des Wassers des Harns wurde volumetrisch bestimmt.

8. Das Gewicht des Wassers der Faeces (die stets fest waren) wurde zu 75% ihres Gesamtgewichtes berechnet.

9. Ausgeatmetes Wasser. Dieses ergab sich aus direkten Bestimmungen, die uns die Menge des mit der Atmung in 4 Minuten abgegebenen Wassers ergaben. Natürlich wurde

---

[1]) Durig, Beiträge zur Physiologie des Menschen im Hochgebirge. Arch. f. d. ges. Physiol. **113**, 1906.

die Menge des Wassers der inspirierten Luft, die vermittels eines Hygrometers berechnet wurde, abgezogen. Auf diese Weise war es leicht, die Menge des in 24 Stunden durch die Lungen abgegebenen Wassers zu finden.

10. Trockenrückstand der Faeces. Er wurde auf 25% des Gesamtgewichtes der Faeces selbst berechnet.

11. Trockenrückstand des Harns. Er wurde aus dem Volumen des Harns berechnet, wobei dessen spezifisches Gewicht berücksichtigt wurde.

12. Gewicht des ausgeatmeten Kohlensäureanhydrids. Hinsichtlich des letzteren müßten wir wiederholen, was wir bei 6. gesagt haben. Auch in dieser Hinsicht haben wir keine direkten Bestimmungen gemacht, sondern wir haben die aus den Zahlen von Zuntz und Durig[1]) entnommenen Mittel verwendet. Als Gewicht eines Liters CO_2 bei 0° und 760 haben wir die Zahl 1,96 g angenommen.

In einer Stunde ausgeschiedenes Kohlensäureanhydrid	Pro Minute ausgeschiedene CO_2 ccm	Pro Stunde ausgeschiedene CO_2 g
in Meereshöhe und am Col d'Olen im Ruhezustand . .	180	21,2
in Meereshöhe und am Col d'Olen während einer mäßigen Bewegung	600	70,5
in der Margheritahütte in der Ruhe	200	23,5
in der Margheritahütte während einer mäßigen Bewegung .	800	94,1
während der Anstrengung im Gebirge	880	103,5

13. Mit der Hautausdünstung ausgeschiedenes Wasser. Bei diesem ist es nicht leicht, direkte Bestimmungen zu machen, und wir müssen uns deshalb damit begnügen, es durch Substraktion, d. h. bei der Ausgleichung der Bilanz fest-

[1]) Durig, Physiologische Wirkungen des Höhenklimas. Wiener klin. Wochenschr. Jahrg. 24, Nr. 18.

zustellen. Dieses Kapitel der Bilanz ist also bei allen Schwankungen beteiligt, die auf die anderen Rubriken der Einnahmen und Ausgaben sich beziehen.

Beschreibung der Versuche.

Galeotti. — 1. Versuch — 29. Juli — Ruhetag am Col d'Olen. — Heiteres Wetter, mittlere Temperatur 11°. Während des Tages mäßige Bewegung im Institut.

Hinsichtlich der Verteilung von Arbeit und Ruhe können die 24 Stunden folgendermaßen eingeteilt werden: 16 Stunden Schlaf und Ruhe, 8 Stunden mäßige Arbeit. Dies gilt auch für die anderen Versuche unter denselben Bedingungen.

2. Versuch — 30. Juli. — Am Vormittag eine anstrengende Tour nach der Strählingspitze (3600 m), welche 5 Stunden dauert. Heiteres, heißes Wetter. Viel Schweiß und viel Durst. Im Institut beträgt die Temperatur ungefähr 12°. In bezug auf die geleistete Arbeit lassen sich die 24 Stunden folgendermaßen verteilen: 9 Stunden vollständiger Ruhe 10 Stunden mäßiger Arbeit, 5 Stunden der Anstrengung.

3. Versuch — 1. August — Ruhetag am Col d'Olen. — Heiteres Wetter, Temperatur ca. 12°.

4. Versuch. — Die beiden vorhergehenden Tage wurden zu einem Ausflug nach der Dufourspitze verwendet, eine sehr mühsame Tour. Der 4. August war ein Ruhetag am Col d'Olen.

5. Versuch — Ruhetag am Col d'Olen. — Mittlere Temperatur 11°.

6. Versuch — 7. August — Ausflug zum Lysjoch, 8stündiger Marsch. Neblichtes, kaltes Wetter, keine Müdigkeit. Von den anderen 16 Stunden wurden 10 in vollständiger Ruhe verbracht und 6 in mäßiger Arbeit im Laboratorium, wie zu anderen Zeiten.

7. Versuch — 8. August — 4stündiger Ausflug nach Cimalegna. — Heiteres, warmes Wetter. Die übrigen 20 Stunden des Tages werden in der Ruhe oder in mäßiger Arbeit verbracht.

8. Versuch — 10. August — Ausflug nach der Strählingspitze und zum Gabietsee. 10 Stunden mühsamer Marsch. Große Hitze, starker Schweiß und intensiver Durst. Von den anderen 14 Stunden des Tages wurden 10 mit Schlaf und Ruhe und 4 mit mäßiger Arbeit ausgefüllt.

9., 10., 11. und 12. Versuch — 23. bis 26. November, Ruhetage in Neapel. — Temperatur zwischen 18 und 20°.

Signorelli. — 13. und 14. Versuch — 28. und 29. August — Ruhetage in der Margheritahütte. — Mittlere Temperatur um Null herum.

15., 16. und 17. Versuch — 6. bis 8. Dezember, Ruhetage in Neapel. — Mittlere Temperatur zwischen 16 und 18°.

In den folgenden Tabellen befinden sich die Bilanzen, die sich auf diese Versuche beziehen.

Galeotti — Versuche am Col d'Olen — Ruhetage.

	1. Versuch 29. Juli				3. Versuch 1. August				5. Versuch 5. August				4. Versuch 4. August			
	Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben	
	Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser	
1. Körpergewicht	—	73,300	—	73,850	—	72,300	—	72,600	—	72,800	—	73,700	—	71,900	—	72,800
2. Wasser der Getränke	1570	—	—	—	1510	—	—	—	1450	—	—	—	2020	—	—	—
3. In den Speisen enthaltenes Wasser	1077	—	—	—	918	—	—	—	1080	—	—	—	1006	—	—	—
4. Durch Oxydation entstandenes Wasser	409	—	—	—	305	—	—	—	361	—	—	—	356	—	—	—
5. Rückstand der Speisen	—	311	—	—	—	204	—	—	—	309	—	—	—	303	—	—
6. Absorbierter Sauerstoff	—	905	—	—	—	905	—	—	—	905	—	—	—	905	—	—
7. Wasser des Harns	—	—	1650	—	—	—	1535	—	—	—	1460	—	—	—	1295	—
8. Wasser der Faeces	—	—	112	—	—	—	94	—	—	—	—	—	—	—	263	—
9. Mit der Atmung ausgeschiedenes Wasser	—	—	322	—	—	—	339	—	—	—	350	—	—	—	308	—
10. Trockener Rückstand der Faeces	—	—	—	38	—	—	—	23	—	—	—	—	—	—	—	87
11. Trockener Rückstand des Harns	—	—	—	33	—	—	—	28	—	—	—	26	—	—	—	21
12. Ausgeschiedenes Kohlensäureanhydrid	—	—	—	896	—	—	—	896	—	—	—	896	—	—	—	896
13. Mit der Hautverdunstung ausgeschiedenes Wasser	—	—	671	—	—	—	627	—	—	—	473	—	—	—	820	—
	3056	3056	2755	2755	2733	2733	2595	2595	2891	2891	2283	2283	3382	3382	2686	2686
		77,572		77,572		76,142		76,142		76,905		76,905		76,490		76,490

Galeotti — Versuche am Col d'Olen — Tage der Bergbesteigungen.

	2. Versuch 30. Juli				6. Versuch 7. August				7. Versuch 8. August				8. Versuch 10. August			
	Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben	
	Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser	
1. Körpergewicht	—	73,850	—	72,300	—	73,800	—	72,400	—	72,400	—	72,200	—	72,000	—	71,200
2. Wasser der Getränke	2790	—	—	—	2050	—	—	—	1590	—	—	—	3662	—	—	—
3. In den Speisen enthaltenes Wasser	1035	—	—	—	1071	—	—	—	1292	—	—	—	586	—	—	—
4. Durch Oxydation entstandenes Wasser	339	—	—	—	425	—	—	—	381	—	—	—	331	—	—	—
5. Rückstand der Speisen	—	294	—	—	—	339	—	—	—	327	—	—	—	261	—	—
6. Absorbierter Sauerstoff	—	1535	—	—	—	2103	—	—	—	1346	—	—	—	2146	—	—
7. Wasser des Harns	—	—	3290	—	—	—	2080	—	—	—	1675	—	—	—	895	—
8. Wasser der Faeces	—	—	203	—	—	—	90	—	—	—	113	—	—	—	—	—
9. Mit der Atmung ausgeschiedenes Wasser	—	—	307	—	—	—	359	—	—	—	392	—	—	—	347	—
10. Trockener Rückstand der Faeces	—	—	—	67	—	—	—	30	—	—	—	37	—	—	—	—
11. Trockener Rückstand des Harns	—	—	—	66	—	—	—	40	—	—	—	48	—	—	—	16
12. Ausgeschiedenes Kohlensäureanhydrid	—	—	—	1479	—	—	—	2192	—	—	—	1403	—	—	—	2264
13. Mit der Hautverdunstung ausgeschiedenes Wasser	—	—	—	2068	—	—	2597	—	—	—	1468	—	—	—	4264	
	4164	4164	5931	5931	3546	3546	5126	5126	3263	3263	3648	3648	4579	4579	5506	5506
		79,843		79,843		79,788		79,788		77,336		77,336		78,986		78,986

Galeotti — Versuche in Neapel — Ruhetage.

	9. Versuch 23. Nov.				10. Versuch 24. Nov.				11. Versuch 25. Nov.				12. Versuch 26. Nov.			
	Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben	
	Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser	
1. Körpergewicht	—	70,500	—	70,300	—	70,500	—	70,600	—	70,600	—	70,400	—	70,400	—	70,400
2. Wasser der Getränke	2087	—	—	—	1857	—	—	—	1507	—	—	—	1647	—	—	—
3. In den Speisen enthaltenes Wasser	704	—	—	—	724	—	—	—	684	—	—	—	733	—	—	—
4. Durch Oxydation entstandenes Wasser	322	—	—	—	316	—	—	—	307	—	—	—	310	—	—	—
5. Rückstand der Speisen	—	301	—	—	—	289	—	—	—	308	—	—	—	226	—	—
6. Absorbierter Sauerstoff	—	905	—	—	—	905	—	—	—	905	—	—	—	905	—	—
7. Wasser des Harns	—	—	1400	—	—	—	1245	—	—	—	1330	—	—	—	1460	—
8. Wasser der Faeces	—	—	120	—	—	—	90	—	—	—	75	—	—	—	90	—
9. Mit der Atmung ausgeschiedenes Wasser	—	—	349	—	—	—	320	—	—	—	360	—	—	—	365	—
10. Trockener Rückstand der Faeces	—	—	—	40	—	—	—	30	—	—	—	25	—	—	—	30
11. Trockener Rückstand des Harns	—	—	—	24	—	—	—	24	—	—	—	26	—	—	—	34
12. Ausgeschiedenes Kohlensäurehydrid	—	—	—	896	—	—	—	896	—	—	—	896	—	—	—	896
13. Mit der Hautverdunstung ausgeschiedenes Wasser	—	—	1690	—	—	—	1386	—	—	—	1199	—	—	—	946	—
	3113	3113	3559	3559	2897	2897	3041	3041	2498	2428	2964	2964	2690	2690	2861	2861
		74,819		74,819		74,591		74,591		74,311		74,311		74,221		74,221

Signorelli — In der Margheritahütte — Ruhetage.

	13. Versuch 28. August				14. Versuch 29. August			
	Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben	
	Wasser		Wasser		Wasser		Wasser	
1. Körpergewicht	—	60,150	—	60,500	—	60,500	—	60,650
2. Wasser der Getränke	1518	—	—	—	1625	—	—	—
3. Wasser der Speisen	612	—	—	—	612	—	—	—
4. Durch Oxydation entstandenes Wasser	290	—	—	—	290	—	—	—
5. Rückstand der Speisen	—	225	—	—	—	225	—	—
6. Verbrauchter Sauerstoff	—	552	—	—	—	552	—	—
7. Wasser des Harns	—	—	975	—	—	—	1225	—
8. Wasser der Faeces	—	—	150	—	—	—	150	—
9. Mit der Atmung ausgeschiedenes Wasser	—	—	480	—	—	—	456	—
10. Trockener Rückstand der Faeces	—	—	—	50	—	—	—	50
11. Feste Stoffe des Harns	—	—	—	18	—	—	—	24
12. Ausgeatmetes Kohlensäureanhydrid	—	—	—	564	—	—	—	564
13. Mit der Hautverdunstung ausgeschiedenes Wasser	—	—	616	—	—	—	685	—
	2420	2420	2215	2215	2527	2527	2516	2516
		63,347		63,347		63,804		63,804

Signorelli — In Neapel — Ruhetage.

	15. Versuch 6. Dezember				16. Versuch 7. Dezember				17. Versuch 8. Dezember			
	Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben		Einnahmen		Ausgaben	
	Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser		Wasser	
1. Körpergewicht[1]	—	61,200	—	60,585	—	60,585	—	60,365	—	60,365	—	60,145
2. Wasser der Getränke	1068	—	—	—	968	—	—	—	1168	—	—	—
3. Wasser der Speisen	804	—	—	—	764	—	—	—	810	—	—	—
4. Durch Oxydation entstandenes Wasser	300	—	—	—	315	—	—	—	284	—	—	—
5. Rückstand der Speisen	—	254	—	—	—	254	—	—	—	239	—	—
6. Verbrauchter Sauerstoff	—	905	—	—	—	905	—	—	—	905	—	—
7. Wasser des Harns	—	—	1715	—	—	—	835	—	—	—	1290	—
8. Wasser der Faeces	—	—	86	—	—	—	103	—	—	—	154	—
9. Mit der Atmung ausgeschiedenes Wasser	—	—	467	—	—	—	465	—	—	—	455	—
10. Trockener Rückstand der Faeces	—	—	—	29	—	—	—	32	—	—	—	51
11. Trockener Rückstand des Harns	—	—	—	34	—	—	—	16	—	—	—	26
12. Ausgeatmetes Kohlensäureanhydrid	—	—	—	896	—	—	—	896	—	—	754	896
13. Mit der Hautverdunstung ausgeschiedenes Wasser	—	—	719	—	—	—	1079	—	—	—	—	—
	2172	2172	2987	2987	2047	2047	2482	2482	2262	2262	2653	2653
		64,531		64,531		63,791		63,791		63,771		63,771

[1]) Bei diesen Versuchen wurde das Körpergewicht wenige Minuten vor der Entleerung der Faeces bestimmt und das Gewicht der Faeces wurde davon subtrahiert.

Wir halten es für zweckdienlich, nun in den beiden folgenden Tabellen die wichtigsten Ergebnisse der vorhin aufgestellten Bilanzen zusammenzufassen.

Auf der ersten Tabelle finden sich die Zahlen der Wassereinnahme und -ausgabe bei den verschiedenen Versuchen, die einer Zurückhaltung oder einem Verlust von Wasser des Körpers entsprechenden Unterschiede zwischen diesen Werten und endlich die Gewichtsschwankungen des Körpers während des Zeitabschnittes des Versuches. Alle diese Daten sind in Hektogramm ausgedrückt, weil die Fehlergrenze bei den Wägungen (wegen der ungenügenden Empfindlichkeit der zur Bestimmung des Körpergewichtes verwendeten Wagen) um ein Hektogramm herum liegt. Auf der zweiten Tabelle sieht man, wie die Ausgabe des Wassers zwischen den verschiedenen Ausführungswegen verteilt ist.

Versuche		Zufuhr des Wasser	Abgabe des Wassers	Schwankungen des Wassergehalts im Körper	Schwankungen des Körpergewichts	Bemerkungen
Galeotti Col d'Olen Ruhetage	1	30,5	27,5	+ 3,0	+ 5,5	
	3	27,3	25,9	+ 1,4	+ 3,0	
	4	33,8	26,8	+ 7,0	+ 9,0	Auf eine Bergbesteigung folgende Tage
	5	28,9	22,8	+ 6,1	+ 9,0	
Galeotti Tage der Bergbesteigungen	2	41,6	59,3	− 17,7	− 15,5	5 stündiger anstreng. Ausflug
	6	35,4	51,6	− 16,2	− 14,0	Marsch zum Lysjoch (5 Stunden)
	7	32,6	36,4	− 3,8	− 2,0	Kleiner 4stündiger Ausflug
	8	45,7	55,0	− 9,3	− 8,0	10stündiger Ausflug
Galeotti Neapel Ruhetage	9	31,1	35,5	− 4,5	− 2,0	
	10	28,9	30,4	− 1,5	+ 1,0	
	11	24,9	29,6	− 4,5	− 2,0	
	12	26,9	28,6	− 1,5	0	
Signorelli Margheritahütte Ruhetage	13	24,2	22,1	+ 2,1	+ 3,5	
	14	25,2	25,1	+ 0,1	+ 1,3	
Signorelli Neapel Ruhetage	15	21,7	29,8	− 8,1	− 6,1	
	16	20,4	24,8	− 4,4	− 2,2	
	17	22,6	26,5	− 3,9	− 2,2	

Versuche		Wasserabgabe Total	mit Harn und Faeces	mit der Atmung	mit der Hautverdünstung	Verteilung der Ausscheidung des Wassers in % mit Harn und Faeces	mit der Atmung	mit der Hautverdünstung	Bemerkungen
Galeotti Col d'Olen Ruhetage	1	2755	1762	322	671	64,0	11,7	24,3	
	3	2595	1629	339	627	62,8	13,0	24,2	
	4	2686	1558	308	820	58,1	11,4	30,5	
	5	2283	1460	350	473	64,1	15,4	20,5	
Mittel		2579	1602	337	647	62,0	13,0	25,0	
Galeotti Tage d. Bergbesteigungen	2	5931	3493	370	2068	58,9	6,3	34,8	Die allzusehr voneinander abweichend. Werte dieser Versuchsgrupp. gestatten nicht, die Mittel festzustellen
	6	5126	2170	359	2597	42,4	7,0	50,6	
	7	3648	1788	392	1468	48,9	10,9	40,2	
	8	5506	895	347	4264	16,3	6,3	77,5	
Galeotti Neapel Ruhetage	9	3559	1520	349	1690	42,7	9,8	47,5	
	10	3041	1335	320	1386	43,7	10,5	44,8	
	11	2964	1405	360	1199	47,3	12,1	40,5	
	12	2861	1550	365	496	54,1	12,7	33,1	
Mittel		3036	1452	348	1305	46,8	11,3	41,9	
Signorelli Margheritahütte Ruhetage	13	2215	1125	480	610	50,6	21,7	27,6	
	14	2516	1375	456	685	54,7	18,3	27,9	
Mittel		2365	1250	468	647	53,0	19,7	27,3	
Signorelli Neapel Ruhetage	15	2987	1801	467	719	60,4	15,5	24,1	
	16	2482	938	465	1079	37,8	18,6	43,5	
	17	2653	1444	455	754	54,4	17,1	28,5	
Mittel		2707	1394	461	850	51,5	17,0	31,5	

Aus der ersten Tabelle ergibt sich, daß die Schwankungen des Wassergehaltes im Körper und die Gewichtsschwankungen immer dasselbe Zeichen haben und einander mit ausreichender Genauigkeit, d. h. mit einer Differenz von nur 1 oder 2 Hektogramm entsprechen.

Mithin kann man sagen, daß unter normalen Bedingungen die Schwankungen des täglichen Gewichtes fast ausschließlich von der Wasserbilanz abhängen.

Bei der Ruhe am Col d'Olen und an der Margheritahütte zeigte sich bei einem jeden von uns Retention von Wasser und Zunahme des Körpergewichtes im Maßstab von 1 bis 5 Hektogramm. Diese Tatsache zeigte sich noch deutlicher an

der auf eine Bergbesteigung folgenden Tagen (4. und 5. Versuch), an welchen das Körpergewicht zu dem Werte zurückkehrte, den es vor der Bergbesteigung hatte.

Bei der Ruhe in Neapel trat bei jedem von uns Wasserverlust und Gewichtsabnahme in leichtem Grade ein.

An den Tagen der Bergbesteigungen trat Wasserverlust und Gewichtsabnahme (bis zu 14 bis 15 Hektogramm) ein, die je nach der Anstrengung und den metereologischen Verhältnissen des Tages mehr oder minder ausgeprägt waren.

Was die Verteilung des durch die verschiedenen Ausführungswege ausgeschiedenen Wassers anbelangt, so sieht man vor allem, daß in den Ruheperioden ein Regime eintritt, das sich während der verschiedenen Tage konstant verhält.

Die größte Wassermenge wird durch Nieren und Darm ausgeschieden, dann eine beträchtlich geringere Menge durch die Haut und endlich eine viel geringere Menge durch die Atmungswege.

Während der Ruhe war für jeden von uns die Menge des durch die Haut ausgeschiedenen Wassers im Hochgebirge (Margheritahütte, Col d'Olen) geringer als in Neapel; doch war dies aller Wahrscheinlichkeit nach durch die höhere Umgebungstemperatur in Neapel bedingt.

Die Menge des in 24 Stunden ausgeschiedenen Wassers erlitt wenig beträchtliche Schwankungen, die übrigens in der oben angekündigten Arbeit genauer untersucht werden sollen. Wir wollen nur bemerken, daß Signorelli stets mehr Wasser ausschied als Galeotti, weil sein Atmungsrhythmus normalerweise häufiger ist als der Galeottis.

Bei den Bergbesteigungen nimmt die Wasserausscheidung durch die Haut stets zu, bis sie die durch Nieren und Darm abgegebene Menge weit übersteigt (8. Versuch).

Zusammenfassung.

1. Unter normalen Bedingungen waren die täglichen Gewichtsschwankungen, die wahrscheinlich ganz und gar durch die Wasserbilanz bedingt sind, sehr klein, während der Ruhe und im positiven Sinne (d. h. der Retention des Wassers und der Gewichtszunahme) im Hochgebirge — und im negativen Sinne in Neapel.

2. Bei den Bergbesteigungen trat stets Wasserverlust und Verminderung des Körpergewichtes ein, je nach der stattgefundenen Anstrengung und den meteorologischen Verhältnissen. An den auf die Bergbesteigungen folgenden Tagen zeigte sich starke Wasserretention, die das Körpergewicht sehr bald auf den ursprünglichen Wert zurückbrachte.

3. Unter den Bedingungen der Ruhe tritt bald ein Regime der Wasserabgabe ein, infolgedessen die Verteilung bei der Ausscheidung dieses Stoffes durch die Hauptwege (Nieren, Darm, Haut, Lungen) sich beinahe konstant erhält.

4. Bei Bergbesteigungen erfährt dieses Regime große Veränderungen und der Wasserverlust durch die Haut erreicht überwiegende Werte.

Biolytische Spaltung des Glutins.

I. Mitteilung.

Von

W. S. Ssadikow.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, St. Petersburg.)

(Eingegangen am 14. April 1912.)

In der Literatur sind einige Angaben vorhanden über den Einfluß, welchen Bakterien auf die eiweißhaltigen Nährböden ausüben (Nencki, Baumann, Brieger, E. und H. Salkowski). In der neueren Zeit wurde das Verhalten der Bakterien gegen einzelne Aminosäuren von Neuberg und seinen Schülern, auch von Borchardt, Ackermann, Effront studiert. Bei allen diesen Untersuchungen wurden erstens keine reinen Bakterienkulturen angewandt — es wurde hauptsächlich Fäulnis eingeleitet —; und zweitens, was ich besonders hervorhebe, hat man in einem Teil dieser Versuche (Ackermann) keine reinen Eiweißstoffe, sondern Gemische von einzelnen Nährstoffen (Bouillon, Wittepepton, Kohlenhydrate) genommen.

Etwa vor 2 Jahren ist es mir gelungen, reine Kulturen einiger Bakterien bloß auf reiner Gelatinegallerte zu entwickeln; ich hatte keine Nährsalze und keine Nährstoffe zur Gelatine zugegeben, und habe nur die schwach saure Reaktion der Handelsgelatine abgestumpft, ev. in eine schwach alkalische umgeändert, um eine bessere Entwicklung der Mikroorganismen zu ermöglichen.

Proteus- und Sarcinaarten können auf der Gelatinegallerte monatelang gedeihen, ohne ihre ursprünglichen Eigenschaften zu verlieren. Kultiviert man Bakterien bei Zimmertemperatur, so beobachtet man bald die allmähliche Verflüssigung der Gallerte,

welche immer mehr fortschreitet. Die vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit jenen chemischen Veränderungen der Gelatine, welche durch das Leben der Bakterien hervorgerufen werden. Da diese Veränderungen von denjenigen, welche durch Hydrolyse mit Säuren, Alkalien und Fermenten entstehen, ganz verschieden sind, und da es sich hier um Lebensvorgänge handelt, habe ich eine solche Art von Eiweißspaltungen als Biolyse bezeichnet. Zuerst habe ich die Biolyse des Glutins durch Proteus vulgaris und Penicillium glaucum studiert.

I.

Es wurde etwa 10%ige Gallerte einer Handelsgelatine bereitet; die Gelatine wurde ganz schwach alkalisiert, so daß sie Lackmus ganz schwach bläute, gegen Phenolphthalein aber neutral blieb. Die Gelatinegallerte wurde dreimal nach Tindal sterilisiert, jedesmal 20 Minuten lang. Die so sterilisierte Gelatine erstarrte bei Zimmertemperatur zu einer harten Gallerte. Die Gelatine wurde infiziert mit einer frisch bereiteten Emulsion von reinen Agarkulturen des Proteus vulgaris. Nach einiger Zeit (3 bis 4 Tagen) fängt die Gelatine an, sich zu verflüssigen, die Bakterien vermehren sich, indem sie die Bestandteile der von ihnen zersetzten Gelatine zum Aufbau ihres Körpers benutzen.

Werden die Versuche bei Bruttemperatur angestellt, so gehen die Vorgänge des Abbaues des Glutins und der Aufbau des Bakterieneiweißes bedeutend schneller. Schon binnen 3 bis 4 Wochen büßt die ganze Gelatinemasse (4 Liter) ihr ursprüngliches Gelatinierungsvermögen ein. Nach dreimonatlichem Verbleiben in Gelatinekulturen behält Proteus seine Bewegung (hängende Tropfen). Impft man ein solches Biolysat auf Nähragar, so beobachtet man ein üppiges Wachstum. Die Biolysate verschiedenen Alters wurden durch Berkefeld-Filter filtriert und dann der näheren Untersuchung unterworfen.

20 ccm Biolysat enthielten nach Abdampfen 1,7941 g Trockenrückstand, bei 150° getrocknet.

Säuert man das Biolysat mit Schwefelsäure schwach an und kocht dasselbe, so werden flüchtige Säuren abdestilliert.

1. 50 ccm Biolysat (entsprechend 4,4852 g Trockensubstanz), mit Wasser verdünnt und destilliert, gaben ein Destillat, welches zur Neutralisation 88,1 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO oder 0,3524 g NaHO erforderte. Be-

rechnet man die flüchtigen Säuren als Essigsäure, so enthält das Destillat 0,5286 g oder 11,78% Säuren.

2. 20 ccm Biolysat (1,7941 g) wurden mit Wasser destilliert. Zur Neutralisation des Destillats sind 6,2 ccm $^n/_{10}$-NaHO erforderlich, was 2,07% Säuren entspricht.

Der Destillationsrückstand wird mit Wasser verdünnt, mit Schwefelsäure bis etwa 3% angesäuert und wieder destilliert. Das Destillat erforderte 11,50 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 3,84% Säuren entspricht. Destilliert man den Rückstand noch einmal unter Zugabe von Schwefelsäure bis 20% Konzentration, so erfordert das Destillat noch 17,1 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 5,71% Säuren entspricht. Die Gesamtsäuremenge war 11,62%.

Der Rückstand wird mit NaHO alkalisiert und destilliert. Das Destillat erforderte 57,8 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 5,47% NH_3 entspricht.

3. Eine gewisse Menge des Biolysats wurde abgedampft und bei 110° getrocknet und gepulvert. 2,4686 g in 3 l Wasser gelöst, Natronlauge hinzugesetzt und destilliert. Das Destillat erforderte 38,4 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 2,64% NH_3 entspricht.

Der Rückstand, stark angesäuert und wieder destilliert, gab ein Destillat, welches 49,8 ccm $^n/_{10}$-NaHO erforderte, was 12,1% Säure entspricht.

4. 20 ccm Biolysat (1,7941 g Trockensubstanz).

Erste Destillation mit H_2SO_4. Das Destillat erforderte: 36,50 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 12,2% Säure entspricht.

Erste Destillation mit NaHO. Das Destillat erforderte: 73,65 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 7,0% NH_3 entspricht.

Zweite Destillation mit H_2SO_4. Das Destillat erforderte: 58,50 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 19,55% Säure entspricht.

Zweite Destillation mit NaHO. Das Destillat erforderte: 7,50 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 0,7% NH_3 entspricht.

Gefundene Gesamtsäuremenge: 31,75%, NH_3 — 7,7%.

5. 20 ccm Biolysat.

NaHO-Destillation. Das Destillat erforderte: 70,25 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 6,65% NH_3 entspricht.

H_2SO_4-Destillation. Das Destillat erforderte: 43,50 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 14,55% Essigsäure entspricht.

Bei weiterer H_2SO_4-Destillation erhält man fortwährend kleine Mengen flüchtiger Säuren. In den Destillaten werden 5,0 — 4,6 — 2,4 — 3,0 ccm usw. $^n/_{10}$-NaHO bestimmt. Es ist unmöglich, die Gesamtmenge der flüchtigen Säuren zu bestimmen, da dieselben immer umgebildet werden.

Die zweite NaHO-Destillation gab 0,52% NH_3, die Gesamtmenge des NH_3 war also 7,17%.

6. 20 ccm Biolysat.

NaHO-Destillation gab 72,3 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 6,85% NH_3 entspricht.

7. 20 ccm Biolysat.

H_2SO_4-Destillation. Verbraucht: 33,65 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 11,25% Essigsäure entspricht.

Nachträgliche Destillationen mit H_2SO_4 zeigten, daß ununterbrochen kleine Säuremengen gebildet wurden.

NaHO-Destillation. Verbraucht: 69,1 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 6,55 % NH_3 entspricht.

H_2SO_4-Destillation. Verbraucht: 18,7 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 6,25 % Essigsäure entspricht.

8. 50 ccm Biolysat (4,4852 g).

Destillation mit Magnesia usta. Verbraucht: 149,7 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 5,87 % NH_3 entspricht.

Erste NaHO-Destillation. Verbraucht: 6,8 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 0,25 % NH_3 entspricht.

Erste H_2SO_4-Destillation. Verbraucht: 92,9 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 12,43 % Essigsäure entspricht.

Zweite NaHO-Destillation. Verbraucht: 19,1 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 0,65 % NH_3 entspricht.

Zweite H_2SO_4-Destillation. Verbraucht: 19,5 ccm $^n/_{10}$-NaHO, was 2,60 % Essigsäure entspricht.

Mit Hilfe von Bakterien biolysiertes Glutin unterscheidet sich von dem Glutin, welches mit Säuren, Alkalien oder Fermenten hydrolysiert ist, da es beträchtliche Mengen von flüchtigen Säuren und flüchtigen Basen liefert. Von den letzteren finden wir bis 7,7 %, als NH_3 berechnet, was etwa der Hälfte des sämtlichen Stickstoffs des Glutins entspricht (6,33 %). Im Biolysate sind die Basen ziemlich labil gebunden, da sie schon durch die Einwirkung von Magnesia in Freiheit gesetzt werden. Flüchtige Säuren entstehen durch langsame Zersetzung einer Verbindung, welche im Biolysate vorhanden ist. Nachdem alle flüchtigen Basen durch NaHO-Destillation aus dem Biolysate entfernt waren, hatte eine neue Destillation des Rückstandes mit NaHO nach vorausgegangener Behandlung mit H_2SO_4 neue Mengen von Basen geliefert. Um die Natur der flüchtigen Basen aufzuklären, wurden folgende Versuche ausgeführt:

I. Das Biolysat wurde mit Wasser unter Zusatz von Magnesia destilliert; Destillat mit Salzsäure angesäuert und zur Trockne abgedampft. Das erhaltene Salz wurde durch mehrmalige Umkrystallisation gereinigt.

0,1664 g dieses Salzes geben 0,3540 g AgCl, was 54,64 % Cl entspricht.

Berechnet für $CH_3.NH_2.HCl$: 54,60 % Cl. Bei Magnesiadestillation des Biolysats wird also Methylamin entwickelt.

II. Das Biolysat wurde mit Wasser und NaHO destilliert; das Destillat mit Salzsäure angesäuert, das Salz durch Krystallisation gereinigt.

0,2318 g des Salzes (bei 100° getrocknet) gaben 0,5600 g AgCl, was 59,81 % Cl entspricht.

Berechnet für $[CH_3.NH_2.HCl + NH_4Cl]$: 59,47 % Cl.

Bei NaHO-Destillation des Biolysats wird also ein äquimolekulares Gemisch von Methylamin und Ammoniak gebildet.

III. Das Salz, welches bei der zweiten NaHO-Destillation gewonnen wurde, enthielt 44,30% Cl. Berechnet für Äthylamin: 43,56% Cl.

IV. Das Salz, welches bei der ersten NaHO-Destillation erhalten wurde, zeigt 59,62% Cl, ist also, wie bei II, ein Gemisch von Methylamin und NH_3. Bei diesen Versuchen hat sich herausgestellt, daß bei der Magnesiadestillation des Biolysats sich Methylamin entwickelt, bei der ersten NaHO-Destillation ein Gemisch von Methylamin und NH_3 entsteht, bei der zweiten NaHO-Destillation wahrscheinlich auch Äthylamin. Unter dem Einflusse des Alkali werden also verschiedenartige Komplexe des Biolysats zerlegt.

Um die Natur der flüchtigen Säuren aufzuklären, wurden folgende Versuche angestellt.

I. Das saure Destillat wurde mit Natronlauge neutralisiert und zur Trockne abgedampft. Das Salz wurde durch Krystallisation und Alkoholbehandlung gereinigt.

0,4166 g des in Alkohol unlöslichen Salzes, mit konz. H_2SO_4 abgedampft, gaben 0,2501 g Na_2SO_4, was 17,97% Na entspricht.

Für Valeriansäure berechnet man: 18,55% Na.

0,3119 g des in Alkohol löslichen Salzes, mit konz. H_2SO_4 abgedampft, gaben 0,2383 g Na_2SO_4, was 27,89% Na entspricht.

Für Essigsäure berechnet man: 28,05% Na.

II. 50 ccm Biolysat (4,4852 g Trockensubstanz) wurden mit H_2SO_4 angesäuert und ausgeäthert. Die Ätherauszüge wurden abgedampft, im Wasser gelöst und mit $^n/_{10}$-NaHO titriert. Verbraucht wurden 51,65 ccm.

Das Natriumsalz wurde ins Silbersalz verwandelt.

0,1823 g dieses Salzes gaben 0,1091 g oder 59,84% Ag.

Für Propionsäure berechnet man: 59,66% Ag.

III. Das Natriumsalz, welches bei der zweiten Säuredestillation gewonnen wurde, wurde ins Silbersalz verwandelt.

0,2381 g dieses Salzes gaben 0,1473 g oder 61,84% Ag.

Für ein Gemisch gleicher Teile Essigsäure und Propionsäure berechnet man 62,16% Ag.

Diese Versuche zeigen, daß bei dem Kochen des Biolysats mit Schwefelsäure Essigsäure, Propionsäure und Valeriansäure gebildet werden; auch wird der Geruch von Buttersäure beobachtet. Außerdem entsteht wahrscheinlich auch Ameisensäure. Wie schon oben erwähnt, werden bei Säuredestillationen des Biolysats fortwährend kleine Mengen Säure gebildet, so daß man kein Ende erreicht. So z. B. verbrauchen, nachdem man 50 ccm Biolysat ausgeäthert hatte und auf diese Weise die von meisten flüchtigen Säuren befreite Flüssigkeit der Säuredestillation unterwirft, jede neue 2 Liter Destillat folgende $^n/_{10}$-NaHO-Mengen: 3,90, 315, 1,80,

3,90, 4,50, 1,55, 2,05, 2,85 usw. Sammelt man diese Destillate, neutralisiert sie mit NH_3 und dampft sie zur Trockne, so erhält man den Rückstand, welcher starke Reduktion von $AgNO_3$ zeigt und beim Erwärmen mit Sublimatlösung Kalomel bildet.

Die Gegenwart von Ameisensäure kann im Biolysat selbst konstatiert werden. Biolysierte Gelatine im Gegensatz zu der normalen oder zu der mit Säuren, Alkalien und Fermenten hydrolysierter Gelatine reduziert beim Kochen Silbernitratlösung.

Bei Säuredestillationen des Biolysats wird auch CO_2 abgespalten. Die Destillate trüben Barytwasser.

Als ich die Biolysate mit Hilfe von Phenolphthalein titrieren wollte, stellte es sich heraus, daß man keinen Farbenumschlag erreichen konnte, was die Gegenwart halbgebundener Kohlensäure andeutete. Säuert man das Biolysat an, so tritt ein starkes Schäumen ein, es entwickelt sich Gas, welches Barytwasser trübte. Beim Kochen des Biolysats findet gleichzeitig Entwicklung von Kohlensäure und Ammoniak statt. Leitet man kohlensäurefreie Luft durch kochendes Biolysat und dann durch eine Schwefelsäureflasche und einen Kaliapparat, so kann man die Mengen von CO_2 und NH_3 quantitativ bestimmen.

30 ccm Biolysat, entsprechend 2,8624 g Trockensubstanz, gaben nach 3stündigem Kochen 0,0534 g oder 1,85% CO_2.

50 ccm Biolysat, entsprechend 4,4852 g Trockensubstanz, gaben 0,0980 g oder 2,02% CO_2.

Kontrollversuche mit normaler und mit hydrolysierter Gelatine zeigten keine Gewichtszunahme des Kaliapparats.

Da diese Reaktion bei der Biolyse des Glutins besonders stark mit Schimmelpilzen ausgeprägt ist, so wird sie näher in der folgenden Mitteilung besprochen.

Um die Frage zu entscheiden, ob die Bildung von flüchtige Säuren und flüchtige Basen liefernden Substanzen durch enzymatische oder durch biolytische (biodynamische) Vorgänge hervorgerufen wird, wurden Versuche angestellt, das Glutin mit durch Chloroform getöteten Kulturen von Proteus vulgaris zu zersetzen. Nach monatelangem Verbleiben des Glutins im Brutschranke büßte es sein Gelatinierungsvermögen ein. Die Flüssigkeit wurde durch Berkefeld-Filter filtriert und untersucht.

20 ccm gaben bei der Säuredestillation 0,35 ccm $^n/_{10}$-NaHO, während das Biolysat bis 43,50 ccm $^n/_{10}$-NaHO-Verbrauch ergab.

20 ccm gaben bei der NaHO-Destillation 6,55 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, während das Biolysat bis 70,25 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4-Verbrauch ergab.

Hier haben wir keinen enzymatischen, sondern einen biodynamischen Vorgang.

Es ist merkwürdig, daß der Gesamtstickstoff im biolysierten Glutin etwas höher ist (sic!) als im ursprünglichen Glutin.

0,1519 g Glutin (bei 100° getrocknet) gaben 18,00 ccm und 18,05 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, was 16,74 % N entspricht.

20 ccm Biolysat Nr. 1, auf 200 ccm verdünnt und davon 20 ccm (0,1794 g Trockensubstanz bei 100°) kjeldalisiert, gaben 24,25, 24,20 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, was einem Stickstoffgehalte von 18,89 % entspricht.

Bei der Biolyse des Glutins durch Schimmelpilze wird eine noch stärkere Anreicherung des Biolysats an Stickstoff beobachtet. Nähere Beobachtungen und Betrachtungen über diese Erscheinung werden in der folgenden Mitteilung erörtert.

Es ist bekannt, daß Glutin keinen bleischwärzenden Schwefel enthält. Unterwirft man aber das Glutin der Biolyse, so bekommt man ein Biolysat, welches eine scharfe Schwefelbleireaktion liefert. Schon beim Kochen des Biolysats werden mit dem Luftstrom stark riechende, bleipapierschwärzende Substanzen abgetrieben. Es ist augenscheinlich, daß der schwefelhaltige Komplex des Glutins bei der Biolyse angegriffen wird.

Die Biolysate zeigen ein größeres Additionsvermögen dem Schwefelkohlenstoff gegenüber.

Filtriertes Biolysat war durch einen großen Überschuß Alkohols niedergeschlagen. Die erhaltene zähe Masse wurde mit alkoholischer CS_2-Lösung behandelt, gewaschen und bei 150° getrocknet. Man erhält ein Präparat mit 1,77 % S, während der Schwefelgehalt des Glutins vor der Thionylierung 0,41 % war. Schüttelt man das Biolysat mit CS_2 gut durch, trennt die wässerige Schicht, dampft ein und trocknet bei 150°, so wird ein Präparat gewonnen, welches 2,33 und 2,29 % Schwefel enthält.

Die Schwefelkohlenstoffaddition ist sicher durch die Gegenwart des Ammoniaks und der Amine im Biolysate bedingt.

Auch nach 10 monatlichem Verbleiben des Proteus auf Gelatine gedeihen die Bakterien so gut, wie auf einem geeigneten Nährboden. Die Reaktion der tief biolysierten Gelatine

blieb schwach alkalisch, obwohl bei Säuredestillation größere Mengen flüchtiger Säuren gebildet werden. Die Bakterien waren normal beweglich und wuchsen gut auf dem Nähragar.

Um festzustellen, wie tief eine biolytische Zersetzung des Glutins gehen kann, habe ich das Glutin noch zweimal nachträglich biolysiert, nachdem vorher alle gebildeten flüchtigen Säuren und Basen entfernt wurden.

Etwa 10 l 10%iger sterilisierter Gelatine, mit einem Stickstoffgehalt von 16,15%, waren mit einer Bouillon-Reinkultur von Proteus vulgaris infiziert und 6 Monate lang bei 38° gehalten. Nach Verlauf dieser Zeit waren die Bakterien lebendig. Das Biolysat wurde durch ein Berkefeld-Filter filtriert, angesäuert und portionsweise wochenlang mit kaltem Äther in einem Extraktor ausgezogen. Nach dem Abdampfen des Äthers hinterblieben 130 g flüssiger Säuren. Diese Flüssigkeit, welche einen starken Geruch nach Essigsäure besaß, wurde mehrmals fraktioniert, zuerst unter vermindertem, dann bei gewöhnlichem Drucke. Unten werde ich die Analyse einzelner Fraktionen anführen.

Nachdem das Biolysat mit Äther erschöpft wurde, befreit man es von Schwefelsäure durch einen Barytüberschuß und destilliert die flüchtigen Basen bei Gegenwart von Baryt. Die Basen werden mit Salzsäure gebunden. Die salzsauren Salze werden bei 100° getrocknet und zuerst mit Chloroform, dann mit absolutem Alkohol ausgezogen. Die Flüssigkeit, welche von Basen, Baryt und Schwefelsäure befreit war und welche schwach alkalisch reagierte wegen der Gegenwart von doppeltkohlensauren Kalkes, wurde bis zum Sirup eingeengt, wieder gelöst, filtriert, sterilisiert und wieder mit Proteus infiziert.

Die zweite Biolyse dauerte wiederum 6 Monate bei 38°. Die Bakterien blieben ebenfalls am Leben. Das Biolysat behielt seine ursprüngliche, schwach alkalische Reaktion. Es sind wieder beträchtliche Mengen flüchtiger Säuren und Basen gebildet worden. Eine andauernde Ätherextraktion gab 48 g flüssiger Säuren. Bei der Barytdestillation wurde ein penetranter „Mäusegeruch" (acetonitrilähnlich) beobachtet und eine beträchtliche Menge flüchtiger Basen in der Form ihrer salzsauren Salze gewonnen.

Nachdem Baryt und Schwefelsäure quantitativ entfernt waren, wurde die zweimal biolysierte Gelatine sterilisiert und

einer dritten 6 monatlichen Biolyse unterworfen. Auch nach dieser Frist blieben die Bakterien am Leben und bildeten noch weitere Mengen von flüchtigen Säuren und flüchtigen Basen.

Es ist auffallend, daß dieses dritte Biolysat 15,53% Stickstoff enthielt, obwohl die bei erster und zweiter Biolyse entstandenen flüchtigen Basen mit einem Stickstoffgehalt, welcher mindestens die Hälfte des Gesamtstickstoffs des ursprünglichen Glutins ausmachte, entfernt wurden. Es besteht kein Zweifel darüber, daß während des andauernden Verbleibens der Proteusbakterien auf Gelatine eine umfangreiche Assimilation von elementarem Sauerstoff stattfindet.

Analysen.

Erstes Biolysat: Flüchtige Säuren.

1. Fraktion: 105 bis 110°.

Die Säuren werden in Barytsalze übergeführt, welche im absoluten Alkohol größtenteils unlöslich waren. Der in absoluten Alkohol übergegangene Teil war äußerst gering; es war daraus eine Silberverbindung gewonnen, deren Menge zur Analyse aber nicht ausreichte. Beim Verbrennen entwickelt sich ein scharfer Geruch nach Buttersäure. Der in Alkohol unlösliche Teil der Barytsalze wurde in das Silbersalz übergeführt.

0,2283 g des Salzes gaben 0,1469 g Ag, was 64,34% Ag entspricht.

Für Essigsäure berechnet man: 64,65% Ag.

Die Fraktion 105 bis 110° reduziert Silbernitratlösung. Sie enthält hauptsächlich Essigsäure und Spuren von Ameisen- und Buttersäure.

2. Fraktion: 110 bis 115°.

2,2828 g erfordern 62,85 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, was 31,66% Na entspricht.

Für Propionsäure berechnet man: 31,08% Na.

3. Fraktion: 115 bis 125°.

2,5043 g erfordern 73,1 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO, was 33,56% Na entspricht.

Für ein Gemisch von 2 Teilen Propionsäure und 1 Teil Essigsäure berechnet man: 33,47% Na.

Fraktion 118 bis 125°.

2,1828 g erfordern 65,4 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, was 34,45% Na entspricht.

Für ein Gemisch von 1 Teil Propionsäure und 1 Teil Essigsäure berechnet man: 34,70% Na.

4. Fraktion: 125 bis 135°.

1,9490 g erfordern 53,1 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, was 31,33% Na entspricht.

Für Propionsäure berechnet man: 31,08% Na.

Fraktion 125 bis 130%.

2,2340 g erfordern 59,6 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, was 30,68% Na entspricht (Propionsäure: 31,08% Na).

5. Fraktion: 138 bis 148°.

1,6260 g erfordern 40,75 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, was 28,82% Na entspricht.

Für ein Gemisch von 1 Teil Propionsäure und 1 Teil Buttersäure berechnet man: 28,60% Na.

6. Fraktion: 148 bis 158°.

1,0665 g erfordern 24,85 ccm $^n/_2$-NaHO, was 26,79% Na entspricht.

Für Buttersäure berechnet man: 26,13% Na.

7. Fraktion 160 bis 163°.

1,6044 g erfordern 34,7 ccm $^n/_2$-NaHO, was 24,87% Na entspricht.

Für ein Gemisch von 1 Teil Buttersäure und 1 Teil Valeriansäure berechnet man: 24,34% Na.

Fraktion 161°.

0,8255 g erfordern 17,85 ccm $^n/_2$-NaHO, was 24,87% Na entspricht.

Fraktion 163°.

1,7011 g erfordern 37,8 ccm $^n/_2$-NaHO, was 24,96% Na entspricht.

Wir haben also in der Fraktion 1 hauptsächlich Essigsäure, in den Fraktionen 2 und 4 Propionsäure, in der Fraktion 3 ein Gemisch von Essigsäure und Propionsäure; Fraktion 5 enthält ein Gemisch von Propionsäure (141°) und Isobuttersäure (154°), Fraktion 6 (148 bis 158°) enthält Isobuttersäure (154°); Fraktion 7 besteht aus einem Gemisch von Isobuttersäure (154°) und Isovaleriansäure (174°).

Erstes Biolysat: Flüchtige Basen.

Der Chloroformauszug hinterläßt nach dem Eindampfen ein salzsaures Salz.

0,1555 g desselben gaben 0,1356 g AgCl oder 21,57% Cl.

Für Dibutylamin berechnet man: 21,45% Cl.

In Chloroform unlösliche salzsaure Salze werden in die Platindoppelsalze verwandelt.

0,1351 g Chloroplatinat gaben 0,0575 g oder 42,56% Pt.

Für ein Gemisch von $2\,CH_3NH_2 + NH_3$ berechnet man: 42,66% Pt.

Zweites Biolysat: Säuren.

Ein Teil des Ätherauszugs wird mit Ammoniak neutralisiert und ein Silbersalz dargestellt.

0,2369 g des Salzes gaben 0,1494 g oder 63,06% Ag.

Für ein Gemisch von 2 Teilen Essigsäure und 1 Teil Propionsäure berechnet man: 62,96% Ag.

Zweites Biolysat: Basen.

Der Chloroformauszug hinterließ ein Salz, welches in das Chloroplatinat umgewandelt wurde.

0,0977 g Chloroplatinat gaben 0,0674 g oder 33,27% Pt.

Für Amylamin berechnet man: 33,49% Pt.

Chloroplatinat, aus dem in Chloroform unlöslichen salzsauren Salzen dargestellt, gab Platinwerte, welche auf ein Gemisch von Methylamin und Ammoniak hindeuten.

Drittes Biolysat: Säuren.

Der Ätherauszug wird nach Abdunsten des Äthers in Wasser gelöst, mit Ammoniak neutralisiert und mit Silbernitrat gefällt.

0,1800 g des Silbersalzes gaben 0,1121 g oder 62,28 % Ag.

Für ein Gemisch von Essigsäure und Propionsäure berechnet man: 62,13 % Ag.

Drittes Biolysat: Basen.

0,2660 g Chloroplatinat gaben 0,1130 g oder 42,48 % Pt.

Für ein Gemisch von Methylamin und Ammoniak berechnet man: 42,58 % Pt.

Manche Bakterien können sehr gut auf reiner Gelatine gedeihen. In den Zersetzungsprodukten derselben finden sie einen reichlichen Vorrat von Substanzen, welche sie für ihr Leben bedürfen. Gelatine wird auf eigenartige Weise zerlegt, indem als Bausteine Fettsäuren und Aminbasen auftreten. Ob letztere aus Aminosäuren gebildet oder auf eine andere Weise entstanden sind, soll weiteren Untersuchungen unterliegen.

An der Biolyse nehmen auch synthetische Vorgänge teil, was schon aus der Tatsache ersichtlich ist, daß atmosphärischer Stickstoff assimiliert wird.

Es eröffnet sich ein interessantes Gebiet, zu erforschen, wie verschiedene Proteine durch mannigfaltige Bakterien biolytisch gespalten werden. Dieses Problem kann etwas zur Erkenntnis der Proteine unter verschiedenen Lebensbedingungen beitragen.

Biolytische Spaltung des Glutins.

II. Mitteilung.

Von

W. S. Ssadikow.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin, St. Petersburg.)

(Eingegangen am 14. April 1912.)

Da von vornherein nicht ausgeschlossen war, daß bei der Biolyse des Glutins thermolabile Verbindungen sich bilden können, welche bei 38° sich zersetzen könnten, so habe ich eine Biolyse bei Zimmertemperatur angestellt. Ich habe Schimmelpilze (Penicillium glaucum) als biolysierendes Agens angewandt. Die Mikroorganismen besitzen ein sehr hohes gelatineverflüssigendes Vermögen, sie wachsen vorzugsweise auf schwach sauren Nährboden. Die Lebenskraft der Schimmelpilze ist außerordentlich stark, sie verdrängen aus jedem Nährsubstrat die meisten Bakterien und bilden Reinkulturen, ohne daß man das Nährmedium zu sterilisieren braucht.

Ich habe einen Teil der Versuche in breiten, locker bedeckten emaillierten Kesseln ausgeführt, um unter den Bedingungen möglichst guter Aeration zu arbeiten, und nur die Gallerte vor Abdunsten und Antrocknen zu schützen. Ein anderer Teil der Versuche wurde unter sterilen Verhältnissen, in Kolben mit Wattepropfen angestellt.

Aus Handelsgelatine wurde etwa eine 10%ige Gallerte bereitet. Die Gelatine zeigte saure Reaktion, welche nicht abgestumpft wurde. Man impft auf die Oberfläche Penicillium und läßt bei Zimmertemperatur stehen. Nach kurzer Zeit wird die

ganze Oberfläche der Gallerte verschimmelt und die Gelatine fängt an, sich zu verflüssigen. Die Verflüssigung geht immer weiter und nach einigen Wochen ist der sämtliche Inhalt des Kolbens flüssig. Die verflüssigte Gelatine besitzt gegenüber Lackmus eine stark alkalische Reaktion; durch Phenolphthalein wird sie aber nicht gefärbt.

Als ich 2 und 3monatige Biolysate, welche ganz dünnflüssig waren und einen schwefelkohlenstoffähnlichen Geruch besaßen, in gut verkorkten Flaschen längere Zeit aufbewahrte, gewahrte ich beim Öffnen einen beträchtlichen Gasdruck; das Gas strömte mit Geräusch heraus.

Das Biolysat reduziert stark Silbernitratlösung beim Kochen. Kocht man das Biolysat mit Bleiessig in alkalischer Lösung, so wird Schwefelblei abgespalten.

Beim Kochen des Biolysats mit Wasser tritt eine stürmische Entwicklung von Kohlensäure und Ammoniak ein und die alkalische Reaktion des Biolysats verwandelt sich in eine saure. Setzt man zum Biolysat in der Kälte eine Lösung von Kupfersulfat oder ein anderes Schwermetallsalz hinzu, so tritt sofort eine stürmische Kohlensäureentwicklung ein. Beim Erwärmen bildet sich ein voluminöser, amorpher, grüner Niederschlag von Kupferhydroxyd.

Bei den Biolysaten mehr vorgeschrittenen Alters ruft Kupfersulfat eine intensive Blaufärbung und mächtige Kohlensäurebildung hervor. Jüngere Biolysate scheiden bedeutend weniger Kohlensäure aus.

Ich habe mehrere quantitative Bestimmungen von CO_2 und NH_3 gemacht, indem ich eine bestimmte Menge Biolysat kochte und einen kohlensäurefreien Luftstrom durch den Kochkolben, Schwefelsäureflasche und Kaliapparat durchleitete. Das Kochen unter Rückfluß dauerte 3 Stunden. Die Geschwindigkeit des Luftstromes war etwa 1 l in 1 Stunde. Die Hauptmenge der Kohlensäure entstand während der ersten Minuten des Siedens.

Die mit dem Luftstrom fortgerissene Kohlensäure wurde in Schwefelsäureflaschen von den Wasserdämpfen befreit und dann im Kaliapparat (eine besondere Konstruktion) absorbiert. Kontrollversuche, welche unter denselben Bedingungen ausgeführt waren, zeigten keine Zunahme des Gewichtes des Kaliapparates.

Analysen:

1. 50 ccm Biolysat I (2,7814 g Trockengewichtes) gaben 0,1291 g CO_2 oder 4,64%.

2. 50 ccm Biolysat I gaben 0,1309 g CO_2 oder 4,70%.

3. 15 ccm Biolysat I (0,8344 g) gaben 0,0420 g CO_2 oder 5,03%.

4. 15 ccm Biolysat I gaben 0,0416 g CO_2 oder 4,98%.

5. 15 ccm Biolysat I gaben 0,0420 g CO_2 oder 5,03%.

6. 50 ccm Biolysat I wurden im zugeschmolzenen Rohre 12 Stunden lang bei 150° erwärmt. Die Reaktion blieb alkalisch. Beim Öffnen ist kein Druck vorhanden. Beim Kochen wird 0,1510 g CO_2 gebildet oder 5,42%.

7. 30 ccm Biolysat I (1,6688 g) wurden thionyliert. Es wird 0,55% S addiert.

Beim Kochen wird 0,0730 g CO_2 gebildet oder 4,37%.

Das Biolysat I wurde 6 Monate lang in einer gut verkorkten Flasche aufbewahrt.

8. 100 ccm Biolysat (5,5628 g) gaben 0,6558 g CO_2 oder 11,79%.

9. 25 ccm Biolysat (1,3907 g) gaben 0,1645 g CO_2 oder 11,82%.

Das Biolysat I wurde 3 Monate lang in einer gut verkorkten Flasche aufbewahrt.

10. 20 ccm Biolysat (1,1126 g) gaben 0,1025 g CO_2 oder 9,21%.

11. 40 ccm Biolysat (2,2252 g) gaben bei Durchleiten des Luftstromes ohne Kochen 0,0500 g CO_2.

Bei nachträglichem Kochen wird noch 0,1532 g CO_2 gebildet. Gesamtmenge 0,2032 g CO_2 oder 9,10%.

12. 15 ccm Biolysat (0,8344 g) gaben 0,0840 g CO_2 oder 10,06%.

Bei weiterem 3 stündigem Kochen unter Luftdruckleitung hatte das Gewicht des Kaliapparates sich nicht geändert.

Die oben angeführten Prozentgehalte der Kohlensäure, welche beim Kochen gebildet wird, sind nur annähernde Werte, denn die Zahl der Milligramme, welche man durch Gewichtszunahme des Kaliapparates bestimmt, wurden auf das Trockengewicht (bei 105°) des Biolysats bezogen. Das ist aber nicht ganz richtig. Bei 105° getrocknetes Biolysat enthält noch größere Mengen Wasser, welche nur beim höheren Erhitzen entfernt werden können. Außerdem findet beim Eindampfen und Trocknen des Biolysats ein Verlust von CO_2 und NH_3 statt. In der getrockneten Substanz ist weniger Substanz vorhanden, als im Biolysat selbst.

Da aber die Kohlensäurewerte je nach dem Alter des Biolysats und nach seinen Aufbewahrungsbedingungen ziemlich stark variieren können, so fühle ich mich berechtigt, die Werte des Prozentgehaltes, auf konventionelles Trockengewicht berechnet, als Vergleichswerte zu gebrauchen.

Folgende Versuche zeigen den Einfluß des Alters und der Aufbewahrungsbedingungen.

Biolysat III. 25 ccm enthalten 1,1216 g Trockensubstanz.

a) Sofort nach der Verflüssigung untersucht, gaben sie 0,0245 g CO_2 oder 2,18 %.

b) Nach dem Aufbewahren von a) in einem verschlossenen Gefäße während 4 Tagen gaben sie 0,0580 g CO_2 oder 5,17 %.

c) Nach dem Aufbewahren von a) in einem offenen Kolben während 24 Stunden gaben sie 0,0585 g CO_2 oder 5,21 %.

d) Nach dem Aufbewahren von a) in einem geschlossenen Kolben während 3 Wochen gaben sie 0,0830 g CO_2 oder 7,40 %.

e) Nach dem Aufbewahren in einem offenen Kolben während 3 Tagen gaben sie 0,0334 g CO_2 oder 2,96 %.

f) Nach dem Aufbewahren in einem offenen Kolben während 16 Tagen gaben sie 0,0330 g CO_2 oder 2,92 %.

4 wöchiges Biolysat, welches im offenen Gefäß reifte, gab (25 ccm) 0,0375 g CO_2 oder 3,34 %.

Ein anderes 4 wöchiges Biolysat, gewonnen durch die Kultivierung in offenen Schalen, Penicillium auf der Gelatine, welche vorher durch mit Chloroform getötete Kulturen von Proteus teilweise hydrolysiert war, gab auf 50 ccm des Biolysats (3,9100 g) 0,0950 g CO_2 oder 2,43 %.

Eine weitere Biolyse des Glutins in offenen Schalen zeigte auf 50 ccm (3,3440 g) 0,0680 g CO_2 oder 2,03 %.

Aus den oben angeführten Versuchen folgt, daß die Verbindung, welche sich im Biolysat befindet und welche sich dadurch kennzeichnet, daß sie sich beim Kochen unter Kohlensäureentwicklung zersetzt — nennen wir diese Verbindung vorläufig der Kürze wegen „Verbindung x“ — aus dem Glutin sich am besten unter Luftzutritt bildet. Aber die Verbindung x dissoziiert schon bei gewöhnlicher Temperatur, und das ist der Grund, warum wir in offenstehenden Biolysaten nie Kohlensäurewerte über 3 % erhalten. Hebt man dagegen das Biolysat in dicht verschlossenen Gefäßen längere Zeit auf, so erleidet die Verbindung x in kohlensäurereicher Atmosphäre keine weitgehende Zersetzung, und wir können ziemlich hohe Kohlensäurewerte beobachten (bis 12 %).

Um die Glutinspaltung in solcher Richtung anzuregen, daß die Verbindung x gebildet wird, müssen biodynamische Eingriffe erfolgen. Außerdem muß die Biolyse unter möglichst besseren Aerationsbedingungen verlaufen. Die Geschwindigkeit der Bildung der Verbindung x muß die Geschwindigkeit der Disso-

ziation derselben bei Zimmertemperatur und partialem atmosphärischem Kohlensäuredruck überragen.

Viele Mikroorganismen sind unfähig, Glutin auf solche Weise zu zersetzen, daß die Verbindung *x* entsteht. Positive Ergebnisse habe ich außer mit Proteus und Penicillium auch mit Sarcina und B. ramosus erhalten. Es ist nicht ausgeschlossen, daß eine saure Reaktion des Glutins die spezifische Spaltung durch Bakterien begünstigt, wenn diese Bakterien auf saurem Nährboden überhaupt existieren können. Auf schwach alkalischem Nährboden geht die Bildung der Verbindung *x* überhaupt nur im beschränkten Umfange vor sich, wie wir das beim Proteus gesehen haben.

Wir führen einige Versuche mit Sarcina flava an:

50 ccm Biolysat gaben 0,00354 g CO_2.

100 ccm Biolysat gaben 0,0624 g CO_2.

Nach 2wöchigem Aufbewahren dieses Biolysats in dicht verschlossenen Kolben gaben

25 ccm Biolysat 0,0670 g CO_2 und

50 ccm Biolysat 0,1285 g CO_2.

Beim Aufbewahren unter Luftausschluß hat sich beinahe die 4fache Menge der Kohlensäure gebildet.

Biolysate, welche beim Luftzutritt gewonnen waren, nehmen beim Aufbewahren in zugeschlossenen Gefäßen einen scharfen, schwefelkohlenstoffähnlichen Geruch an. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die Bildung der Verbindung *x* in zwei Phasen verläuft. Die erste erfolgt nur unter sehr guten Aerationsverhältnissen. Dabei wird von den Bakterien ein Komplex aus dem Glutinmolekül sozusagen herauspräpariert, welches später am leichtesten unter anaeroben Bedingungen von Bakterien unter Bildung der Verbindung *x* gespalten wird. Diese Leistungen werden nur von lebendigen Mikroorganismen zustande gebracht, sie sind nicht enzymatischer Natur, was folgende Beobachtungen lehren. Die Verbindung *x* wird nur dann gebildet, wenn lebende Bakterien im Biolysate noch vorhanden sind. Sterilisiert man das Biolysat durch Filtration durch Tonzellen, so wird keine Bildung der Verbindung *x* beobachtet. Ältere Biolysate, wo die Bakterien abgestorben sind, zeigen keine Kohlensäurezunahme, auch nach längerem Aufbewahren in geschlossenen Flaschen.

Sehr wichtig ist auch die erste Phase für die Bildung der Verbindung *x*. Bei Kulturen, welche im Kolben mit Wattepropfen

angestellt waren, findet keine umfangreiche Bildung wegen mangelhaften Aerationsbedingungen statt. Die Aeration hat eine große Bedeutung, denn die Bakterien, welche auf der Gelatine gedeihen, verbrauchen nicht nur den Sauerstoff der Luft, sondern auch den Stickstoff der Luft, was wir später noch sehen werden.

Dabei spielen auch die biologischen Einzelheiten der Mikroorganismen und die chemische Struktur des Substrates noch eine gewisse Rolle.

Wie schon erwähnt wurde, findet beim Kochen des Biolysats Entwicklung einer flüchtigen Base statt. Um die Natur derselben aufzuklären, habe ich die Schwefelsäure benutzt, welche zur Entwässerung von Kohlensäure dem Kaliapparat vorgeschaltet war. Verdünnt man diese Schwefelsäure, welche flüchtige Basen enthalten sollte, mit Wasser, so merkt man einen scharfen eigenartigen Geruch. Beim Kochen geht der Geruch in das Destillat, man kann aber in demselben nichts Besonderes nachweisen. Nachdem man den Destillationsrückstand mit Natronlauge versetzt hat und einer wiederholten alkalischen Destillation unterwirft, gewinnt man flüchtige Basen, welche mit Salzsäure gebunden wurden. Das salzsaure Salz wird zur Trockene wiederholt eingedampft, im Wasser gelöst, filtriert, durch mehrfache Umkrystallisation gereinigt. Schließlich wurde ein Platindoppelsalz hergestellt.

0,2259 g des Chloroplatinats gaben 0,0992 g Pt oder 43,91 %.

Für Ammoniumchloroplatinat berechnet man 43,89 % Pt.

Da keine anderen Chloroplatinate gefunden waren, so kann man feststellen, daß **beim Kochen des Biolysats Kohlensäure und Ammoniak gebildet werden.**

Folgende Versuche belehren über die Mengenverhältnisse des gebildeten Ammoniaks und der Kohlensäure.

I. 50 ccm Biolysat wurden 3 Stunden gekocht, der Ammoniak durch Schwefelsäure absorbiert, die Kohlensäure im Kaliapparat aufgefangen.

Gefunden CO_2 0,2860 g.

Gefunden NH_3 0,2098 g (123,4 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 bei Destillation mit NaHO).

Berechnet man auf ein Molekül CO_2 zwei Moleküle NH_3, so müssen

0,2860 g CO_2
0,2210 g NH_3

entsprechen.

II. 50 ccm Biolysat geben beim Kochen:

0,2549 g CO_2
und 0,1754 g NH_3.

Berechnet man auf ein Molekül CO_2 zwei Moleküle NH_3, so müssen
0,2549 g CO_2
0,1968 g NH_3
entsprechen.

Da beim Kochen des Biolysats noch Fettsäuren gebildet werden, welche einen Teil des Ammoniaks binden, muß man die Übereinstimmung zwischen den gefundenen und berechneten Werten als eine sehr gute bezeichnen.

Es ist demnach bewiesen, daß beim Kochen des Biolysats eine Verbindung unter Bildung von 2 Teilen Ammoniak und 1 Teil Kohlensäure zersetzt wird.

Eine solche Verbindung kann nur das Ammoniumsalz der Isocyansäure sein. Die Zersetzung erfolgt nach der Gleichung:

$$NH_4NCO + H_2O = CO_2 + 2\,NH_3.$$

Bei der Biolyse des Glutins entstehen sehr labile Isocyanate, welche aus komplizierten, polymeren Komplexen abgespalten werden.

Die Labilität und Toxizität der Isocyansäure gab mir die Veranlassung, das Verhalten des Diphtherietoxins gegen Kochen zu prüfen. Ich konnte aber keine Ammoniak- und Kohlensäureentwicklung dabei konstatieren. Im Toxin sind also Isocyanate nicht vorhanden.

* * *

Die ursprüngliche saure Reaktion der Gelatinegallerte bei der Biolyse mit Schimmelpilzen verwandelt sich in eine stark alkalische. Diese alkalische Reaktion geht nach dem Kochen des Biolysats wieder in eine saure über.

Kocht man 25 ccm Biolysat (3,0220 g Trockensubstanz) mit Wasser unter Rückfluß während 8 Stunden, so wird im Biolysat so viel Säure gebildet, daß zur Neutralisation 27,40 ccm $^n/_{10}$-NaHO nötig sind.

Kocht man 25 ccm desselben Biolysats 8 Stunden mit Wasser unter Zugabe von 100 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, so werden anstatt 100 ccm $^n/_{10}$-NaHO nur 84,25 ccm $^n/_{10}$-NaHO zur Zurücktitration verbraucht. Wir haben also einen Basenüberschuß, welcher 15,75 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 oder 0,0267 g NH_3 entspricht (0,88 %).

Kocht man 25 ccm desselben Biolysats 8 Stunden mit 100 ccm $^n/_{10}$-NaHO, so wird das ganze Alkali verbraucht

und es entsteht eine saure Reaktion, so daß der ganze Verbrauch an $^{n}/_{10}$-NaHO 120,4 ccm ist.

Kocht man 25 ccm desselben Biolysats 8 Stunden mit 50 ccm $^{n}/_{2}$-NaHO, so entspricht die Menge der gebildeten Säure 164,55 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO.

Beim Kochen von 25 ccm eines anderen Biolysats mit $^{n}/_{2}$-NaHO-Überschuß werden Säuren entsprechend 180 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO gebildet.

Beim Kochen von 25 ccm dieses Biolysats mit $^{n}/_{2}$-H_2SO_4-Überschuß wird Säure verbraucht; es wird Alkali entsprechend 15,80 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 gebildet.

Beim Kochen von 25 ccm dieses Biolysats mit $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 werden Säuren entsprechend 9 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 gebildet, anstatt 180 ccm, wie es beim Kochen mit $^{n}/_{2}$-NaHO der Fall war.

Bei der Einwirkung von Alkalien und Säuren auf das Biolysat findet ein und derselbe Verseifungsvorgang statt, aber die entstehenden Verseifungsprodukte erleiden ein verschiedenes Schicksal. Alkalien verseifen das Biolysat unter Bildung von flüchtigen Basen, welche sich verflüchtigen; die bei der Verseifung entstehenden Säuren werden durch Alkali gebunden und verursachen daher einen Alkaliverbrauch.

Verseift man das Biolysat mit Hilfe von Säuren, so bleiben beide Verseifungsprodukte in der Lösung, Basen und Säuren erleiden sozusagen eine innere Neutralisation, und falls die Säuren nicht im Überschusse entstehen, so wird kein Alkaliverbrauch beobachtet.

Um uns eine Vorstellung zu machen, wie große Mengen von Säuren gebildet werden, wollen wir folgendes Beispiel anführen.

25 ccm Biolysat oder 1,3490 g Trockensubstanz (105°) gaben 180 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO.

Berechnet man die Säure als Essigsäure, so entsprechen 180 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO 1,0802 g Essigsäure oder 80,05 % der Substanz.

Ein sehr beträchtlicher Teil des biolysierten Glutins wird in flüchtige Säuren und flüchtige Basen zerlegt.

Destilliert man 25 ccm des Biolysats (1,3490 g) mit Wasser und titriert das Destillat mit $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, so entspricht der Säureverbrauch (52,15 ccm) 6,57 % NH_3. Die im Kolben gebliebene Flüssigkeit zeigt einen Alkaliverbrauch entsprechend 89,9 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO.

Bei der Destillation des Biolysats mit Wasser in Gegenwart von H_2SO_4 beobachtet man eine ununterbrochene Säureabspaltung. Es gehen also zwei Arten chemischer Vorgänge vor sich, eine Zerlegung der komplizierten Komplexe und eine nachfolgende Verseifung der Produkte der ersten Phase.

Ich will einige Versuche hier näher beschreiben.

Versuch 1.

25 ccm Biolysat (1,0470 g Trockensubstanz) wurden mit einem großen Überschuß Wasser (3 l) unter Zusatz von H_2SO_4 ev. NaHO langsam destilliert. Jede Destillation dauerte etwa 8 Stunden. In das Destillat waren gewöhnlich etwa $2^1/_2$ l übergegangen.

1. Destillation mit H_2SO_4 gab 53,5 ccm $^n/_{10}$-NaHO.
1. „ „ NaHO „ 125,5 „ $^n/_{10}$-H_2SO_4.
2. „ „ H_2SO_4 „ 19,15 „ $^n/_{10}$-NaHO.
2. „ „ NaHO „ 5,40 „ $^n/_{10}$-H_2SO_4.
3. „ „ H_2SO_4 „ 12,0 „ $^n/_{10}$-NaHO.
3. „ „ NaHO „ 0 „ $^n/_{10}$-H_2SO_4.
4. „ „ H_2SO_4 „ 11,7 „ $^n/_{10}$-NaHO.
5. „ „ H_2SO_4 „ 5,0 „ $^n/_{10}$-NaHO.
6. „ „ H_2SO_4 „ 6,5 „ $^n/_{10}$-NaHO.

Die Gesamtmenge der abdestillierten Flüssigkeit war etwa 20 l.

Die Gesamtmenge von Säuren war entsprechend 107,85 ccm $^n/_{10}$-NaHO 61,80% als Essigsäure berechnet.

Die Gesamtmenge von Basen war entsprechend 130,9 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 17,5% als Stickstoff berechnet.

Versuch 2.

25 ccm Biolysat (1,3490 g Trockensubstanz) wurden mit H_2SO_4 und NaHO, wie oben, destilliert.

1. H_2SO_4-Destillation gab 109,40 ccm $^n/_{10}$-NaHO.
2. „ „ „ 26,80 „ „
3. „ „ „ 9,0 „ „
4. „ „ „ 5,7 „ „
5. „ „ „ 6,0 „ „
6. „ „ „ 3,9 „ „

1. NaHO-Destillation gab 155,6 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4.
2. „ „ „ 0 „ „

7. H_2SO_4-Destillation gab 12,0 ccm $^n/_{10}$-NaHO.
8. „ „ „ 3,55 „ „
9. „ „ „ 3,70 „ „
10. „ „ „ 4,80 „ „
11. „ „ „ 3,60 „ „
12. „ „ „ 3,20 „ „

3. NaHO-Destillation gab 0 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.
13. H_2SO_4-Destillation gab 6,50 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO.
14. „ „ „ 4,60 „ „
15. „ „ „ 3,75 „ „

Die Gesamtmenge der abdestillierten Flüssigkeit betrug etwa 45 l. Die Destillation dauerte länger als 150 Stunden.

Die gewonnene Säuremenge entsprach: 196,3 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO oder 87,30% als Essigsäure berechnet.

Die gesamte Basenmenge entsprach: 155,6 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 oder 16,14% N.

Trotz einer so lange dauernden Destillation konnte ich das Ende der Säureabspaltung nicht erreichen.

Versuch 3.

25 ccm Biolysat wurden mit 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure und 100 ccm Wassers 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Dann wurde die Flüssigkeit stark mit Wasser verdünnt und destilliert. Es sollte geprüft werden, ob die Verseifung mit Schwefelsäure auf die Geschwindigkeit der Bildung der flüchtigen Säuren von Einfluß sei.

1. H_2SO_4-Destillation gab 73 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO
2. „ „ „ 46,3 „ „
3. „ „ „ 18,9 „ „
4. „ „ „ 12,2 „ „
5. „ „ „ 5,0 „ „
6. „ „ „ 3,95 „ „

1. NaHO-Destillation gab 155,4 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4
2. „ „ „ 0 „ „

Die Gesamtmenge der Säuren entspricht 159,35 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO.

Die Gesamtmenge der Basen entspricht 155,40 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4.

Die Schwefelsäure-Hydrolyse des Biolysats beeinträchtigt die Säurebildung-Geschwindigkeit, was an das Zustandekommen sekundärer Vorgänge hindeutet. Die Säuren, welche bei H_2SO_4-Behandlung des Biolysats in Freiheit gesetzt werden, sind nicht in Form der leicht zerlegbaren Ammonium-Salze vorhanden, sondern werden aus Komplexen gebildet, welche der Einwirkung der Schwefelsäure nur schwer zugänglich sind. Die ursprünglichen Verseifungsprodukte können einerseits synthetische Umsetzungen erleiden. Aber es ist anderseits möglich, daß dabei auch Säuren, welche mit Wasserdämpfen schwer flüchtig sind, wie z. B. Ameisensäure, entstehen.

Versuch 4.

100 ccm Biolysat (12,088 g Trockensubstanz) wurden mit Schwefelsäure einer Destillation unterworfen in einem Kolben, welcher suspendiertes Calciumcarbonat enthielt und sich im steten Sieden befand. Die mit Wasserdämpfen abgetriebenen Säuren wurden als Calciumsalze gebunden. Das Verfahren hat den Vorteil, daß man die gesamten Säuren

in einer verhältnismäßig kleinen Menge Flüssigkeit sammeln kann, während sonst die Säuren mit sehr großen Wassermengen verdünnt waren. Nachdem 2 Liter Flüssigkeit abdestilliert waren, wurde der Kolben mit Kreide entleert, die Kreide abfiltriert und das Filtrat in einer Platinschale eingedampft.

Man gewinnt 2,7700 g löslicher Calciumsalze, was 1,8466 g Essigsäure ev. 15,27 % der Trockensubstanz entspricht.

Die ganze Menge Calciumsalz wurde im Wasser gelöst, Natriumacetat und Sublimatlösung hinzugesetzt und 3 Stunden im siedenden Wasserbade erwärmt.

Man gewinnt 0,0627 g HgCl, was 0,0061 g Ameisensäure entspricht.

Nach der Abdestillation weiterer 2 Liter durch eine neue Portion der suspendierten Kreide wurden noch

1,1280 g Calciumsalze ev. 0,7520 g oder 6,24 % Essigsäure
und 0,1421 g HgCl ev. 0,0139 g Ameisensäure gewonnen.

Nach einer dritten Destillation wurden

0,6615 g Calciumsalze ev. 0,4410 g oder 3,64 % Essigsäure
und 0,1411 g HgCl ev. 0,0011 g Ameisensäure erhalten.

Die Gesamtmenge der Essigsäure war 25,15 %.

Die Gesamtmenge der Ameisensäure war 0,16 %.

Versuch 4.

100 ccm Biolysat (5,396 g) gaben 0,1188 g HgCl oder 0,0116 g Ameisensäure ev. 0,21 %.

Versuch 5.

100 ccm Biolysat (5,5628 g) gaben 0,0816 g HgCl oder 0,0080 g Ameisensäure ev. 0,14 %.

Versuch 6.

100 ccm Biolysat (12,088 g) wurden 24 Stunden mit H_2SO_4 unter Rückfluß gekocht und dann einer Destillation unterworfen.

1. Destillation gab:
   2,9465 g Calciumsalze und 0,1834 g HgCl.
2. Destillation gab:
   0,6585 g Calciumsalze und 0,1290 g HgCl.
3. Destillation gab:
   0,2425 g Calciumsalze und 0,1360 g HgCl.
4. Destillation gab:
   0,1845 g Calciumsalze und 0,170 g HgCl.

Die Gesamtmenge der Calciumsalze war: 4,032 g, was 2,688 g Essigsäure ev. 22,23 % entspricht.

Die Gesamtmenge des HgCl war: 0,6188 g, was 0,0605 g Ameisensäure ev. 0,5 % entspricht.

Wie die Versuche zeigen, werden nur sehr geringe Mengen Ameisensäure gebildet. Man kann also die ununterbrochene Säurebildung bei der Destillation der Biolysate mit Schwefelsäure nicht durch Schwerflüchtig-

keit der Ameisensäure erklären. Es bleibt nur eine Voraussetzung übrig, daß bei H_2SO_4-Destillation hochmolekulare Komplexe gespalten werden und dabei zuerst höhere nicht flüchtige Säuren entstehen, welche dann unter Bildung von flüchtigen Säuren verseift werden.

* * *

Um über die Natur der flüchtigen Säuren einen Aufschluß zu erhalten, habe ich die Calciumsalze, welche bei der Destillation der Biolysate gewonnen waren, in Silbersalze übergeführt, und letztere mehrfach umkrystallisiert.

0,2025 g Silbersalz gaben 0,1302 g Ag oder 64,30% Ag.

Für Essigsäure berechnet man: 64,65% Ag.

Bei der Biolyse des Glutins durch Schimmelpilze wird hauptsächlich Essigsäure gebildet.

Die Lösung der Calciumsalze und das Biolysat selbst zeigen keinen Geruch nach Buttersäure oder Valeriansäure.

0,60 9g Calciumsalz gaben nach dem Glühen 0,2094 g CaO oder 34,38% CaO.

Für Essigsäure berechnet 35,44% CaO.

Diese Analyse zeigt, daß in den Calciumsalzen nur kleine Mengen höherer Fettsäuren vorhanden sind, etwa auf 3 Teile Essigsäure 1 Teil Propionsäure (berechnet 34,10%). Was die Natur der flüchtigen Basen betrifft, welche bei der NaHO-Destillation entstehen, so zeigt die Analyse der Platindoppelsalze, daß wir es mit Gemengen von Ammoniak und Methylamin zu tun haben.

1. NaHO-Destillation:

0,1710 g Platinat gaben 0,0748 g Pt oder 43,74%.

Für Gemenge ($NH_3 + CH_3NH_2$) berechnet man: 43,49% Pt.

2. NaHO-Destillation:

0,1351 g Platinat gaben 0,0575 g Pt oder 42,56%.

Für Gemenge ($NH_3 + 2CH_3NH_2$) berechnet man: 42,66% Pt.

* * *

Es ist höchst wahrscheinlich, daß das bei der Verseifung des Biolysats entstehende Ammoniak und Essigsäure ursprünglich im Biolysate in Form von Kondensationsprodukten von Acetonitril vorhanden sind. Bei Alkali-Einwirkung verläuft gleichzeitig Depolymerisation und Verseifung des Acetonitrils. Auf diese Weise kann erklärt werden, daß das Acetonitril selbst abzudestillieren nicht gelungen ist. Die Verseifung erfolgt nach der Gleichung:

$$CH_3.CN + 2H_2O = CH_3.COOH + NH_3.$$

Methylamin entsteht wahrscheinlich bei der Zersetzung des Isocyanäthers, welcher sich auch im kondensierten Zustande im Glutinmolekül befindet.

$$CO:NCH_3 + H_2O = CO_2 + NH_2CH_3.$$

Ameisensäure konnte sich bei der Verseifung von Nitrilen bilden.

$$CN.R + 2H_2O = HCOOH + R.NH_2.$$

* * *

Bei der Biolyse eines und desselben Materials (Glutins) durch verschiedene Mikroorganismen werden qualitative und quantitative Unterschiede beobachtet, was darauf hindeutet, daß flüchtige Säuren aus komplizierten Komplexen sich bilden. Bei Biolyse des Glutins durch Schimmelpilze erreicht die Menge der flüchtigen Säuren manchmal 80% der Trockensubstanz, während bei Biolyse des Glutins durch Proteus im Maximum 40% Säure entstehen. Bei Schimmel-Biolyse entsteht hauptsächlich Essigsäure und nur in weit geringeren Mengen Propionsäure und Ameisensäure; bei Proteus-Biolyse sind außer Essigsäure in beträchtlichen Mengen Propionsäure, Isobuttersäure und Isovaleriansäure vorhanden. Im Glutinmolekül sind Komplexe zugegen, welche nach der Art der Saccharose bei verschiedenen Gärungen verschiedene Säuren liefern können.

Die Menge der flüchtigen Säuren bei der Verseifung des Biolysats sind so groß, daß sie nicht alle mit flüchtigen Basen in der Form von Nitrilen gebunden werden könnten.

Nehmen wir z. B. Biolysat Nr. 3. Hier wurden Säuren entsprechend 196,3 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO erhalten, was 1,1778 g Essigsäure entspricht.

Die Menge der Basen war entsprechend 155,6 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 gefunden, was auf NH_3 berechnet: 0,2645 g entspricht.

Daraus müssen 0,1049 g als Isocyanat mit CO_2 gebunden in Abrechnung gebracht werden. Es bleiben 0,1596 g NH_3 übrig.

Da bei Verseifung des Acetonitrils 1 Molekül NH_3 — $^{60}/_{17}$ Moleküle Essigsäure entspricht, so können 0,1596 g NH_3 nur 0,5651 g Essigsäure binden. Wir haben einen Säureüberschuß von 0,6127 g, wenn man auf Essigsäure berechnet, oder einen Säureüberschuß von 0,4697 g, wenn man auf Ameisensäure berechnet. Da das Biolysat auch nach 24 stündigem Kochen mit Barytwasser, und nach tagelangen Destillationen mit Schwefelsäure noch immer Silbernitratlösung stark reduziert, so ist die Gegenwart von schwerflüchtiger Ameisensäure unleugbar.

Der Schluß, welcher aus diesen Beobachtungen und Betrachtungen gezogen werden kann, ist der, daß ein großer Teil der Säuren nicht von Säurenitrilen stammt, sondern durch Zersetzung eines komplizierten Komplexes entsteht.

* * *

Als ich Schimmel-Glutin-Biolysate, welche bei günstigen Aerationsverhältnissen längere Zeiten gewachsen waren, auf ihren Stickstoffgehalt untersuchte, habe ich eine auffallende Tatsache konstatiert, nämlich, daß man bei NaHO-Destillation der Biolysate mehr Ammoniak-Stickstoff erhält, als überhaupt im ursprünglichen Glutin vorhanden war.

I. Biolysat Nr. 1.

5 ccm des Biolysats, 0,2095 g Trockensubstanz entsprechend (105°) gaben bei NaHO-Destillation 28,35 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 18,94 % N.

Im Glutin, welches bei 105° getrocknet war, war der Stickstoffgehalt 16,21 %.

Bei Kjeldahlisation bekommt man 45,05 ccm und 45,0 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, was 30,07 % N entspricht!

II. Biolysat Nr. 3.

5 ccm des Biolysats (0,2698 g Trockensubstanz) gaben bei NaHO-Destillation 35,05 ccm, 35,05 ccm, 34,9 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, was 18,18 % N entspricht.

Bei Kjeldahlisation bekommt man

59,30 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4, was 30,77 % N entspricht!
59,70 „ „ „ 30,97 % N „
59,65 „ „ „ 30,94 % N „

Biolysate Nr. 1 und Nr. 3 besaßen ein Alter von mehr als 6 Monaten und waren bei sehr guter Aeration (offenem Gefäß) gehalten. Jüngere Biolysate, besonders diejenigen, welche in Kolben mit dichten Wattebauschen gehalten waren, zeigen nur eine geringe Anreicherung an Stickstoff.

III. Biolysat C. 1 Woche alt, im offenen Gefäß.

5 ccm des Biolysats (0,2243 g) gaben bei NaHO-Destillation 6,70 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 4,18 % N.

Bei Kjeldahlisation bekommt man 0,0331 g N und 0,0330 g N ev. 14,75 % und 14,71 %.

Am Anfange der Biolyse wird der Gesamtstickstoff um 1,5 % kleiner erhalten.

IV. Biolysat D. 3 Monate alt, im Kolben mit Wattebausch gehalten.

5 ccm des Biolysats (0,308 g) gaben bei NaHO-Destillation 4,1 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 1,86 % N.

Bei der Kjeldahlisation bekommt man 36,7 ccm und 36,8 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 16,68 und 16,72 % N.

V. Biolysat Nr. 4. 3 Monate alt, im offenen Gefäß gehalten.

5 ccm des Biolysats (0,6044 g) gaben bei NaHO-Destillation 0,0471 g N ev. 7,79 % N.

Bei der Kjeldahlisation bekommt man 0,09365 g N ev. 15,49 %.

VI. Biolysat E. 3 monatige Kultur, im Kolben mit Wattebausch.

5 ccm des Biolysats (0,3344 g) gaben bei NaHO-Destillation 5,4 ccm und 5,6 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 2,26 % und 2,34 % N.

Bei der Kjeldahlisation bekommt man 41,8 ccm und 41,85 ccm $^{n}/_{10}$-H_2SO_4 ev. 17,5 und 17,52% N.

Bei andauernder Biolyse des Glutins durch Proteus oder Schimmelpilze verwandelt sich ein immer größerer Teil des Stickstoffkomplexes in Aminbasen oder NH_3. Wie der Versuch V zeigt, kann die Menge des freigemachten Stickstoffs 7,79%, das heißt die Hälfte des Gesamtstickstoffs (15,49%) erreichen. Eine weitere Ammoniakbildung, welche in älteren Biolysaten bis zu 18,94% geht, geschieht auf Rechnung irgendwelcher Stickstoffverbindungen, die durch Assimilation des elementaren Luftstickstoffs entstehen sollen. Man muß annehmen, daß in Biolysaten solche organische Gruppierungen im Verlaufe der Biolyse entstehen, welche elementaren Stickstoff zu binden vermögen, wie es z. B. einige Metalle und Carbide tun. Was für Verbindungen diese Azotozeptoren sind und wie sie zustande kommen, werden vielleicht spätere Untersuchungen entscheiden können. Wir haben hier einen ähnlichen Vorgang wie bei der Nitritbildung, welche sich leicht unter Ammoniakabspaltung zersetzen.

Aber vom gesamten assimilierten Nitritstickstoff wird nur ein Teil wieder freigemacht. Ein anderer Teil verwandelt sich in eine feste gebundene Form und ist unfähig, bei der Biolyse flüchtige Basen zu liefern. In den Biolysaten Nr. 1 und Nr. 3 haben wir 12,78% solchen festgebundenen Stickstoffs, im Biolysate C 10,54%, im Biolysate D 14,84%, im Biolysate Nr. 4 7,70%, im Biolysate E 15,2%. Die Biolyse kann eine tiefgehende sein und doch bleibt ein größerer Teil des Stickstoffs festgebunden; manchmal kann die Menge des nativen festgebundenen Stickstoffs sich auf Rechnung des Nitritstickstoffs vermehren.

300 ccm des Biolysats Nr. 3 wurden 24 Stunden mit $Ba(OH)_2$ unter Rückfluß gekocht und auf diese Weise sämtliche flüchtigen Basen entfernt. Nach dem Ansäuren und Filtrieren der Flüssigkeit wurde tagelang mit Schwefelsäure destilliert, um alle flüchtigen Säuren zu vertreiben. Endlich wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt und der Stickstoffgehalt sowohl im Baryt-Niederschlag, wie auch im Baryt-Filtrat bestimmt.

0,1878 g des mit Phosphorwolframsäure fällbaren Teiles (getrocknet bei 105°) enthielten 0,0356 g N, entsprechend 18,95%.

0,6420 g des mit Phosphorwolframsäure nicht fällbaren Teiles enthielten 0,0310 g N, entsprechend 4,82%.

Daraus folgt, daß $^4/_5$ des festgebundenen Stickstoffs zur Diaminosäure-Fraktion gehören, und nur $^1/_5$ den Monoaminosäuren entsprechen konnte. Daß letztere nur in geringen Mengen vorhanden sein können, zeigt folgender Versuch.

Das Biolysat wurde bei 30° und 8 mm Druck abgedampft, der Sirup in absoluten Alkohol aufgenommen, wobei eine Fällung entsteht, welche Biuretreaktion zeigt. Das Filtrat, mit $Cu(OH)_2$ gekocht, zeigt nur eine ganz schwache Blaufärbung. Es ist noch zu erwähnen, daß sowohl die mit Phosphorwolframsäure fällbaren, wie auch die nicht fällbaren Teile Silbernitratlösung stark reduzieren.

* * *

Zum Schlusse möchte ich noch einen Versuch beschreiben, nämlich die Biolyse eines mit Schwefelsäure vollständig hydrolisierten Glutins. Das Glutin war 24 Stunden mit viel 25%iger Schwefelsäure unter Rückfluß gekocht, dann die Hauptmenge der Schwefelsäure durch Baryt und die Reste mit $CaCO_3$ entfernt. Die filtrierte Hydrolysatlösung, welche beim Eindampfen sich in einen Krystallbrei verwandelte, wurde sterilisiert und mit Bakterien geimpft.

Auf diesem Nährboden konnten Proteus vulgaris, Vibrio Denicke, B. subtilis, B. mesentericus, Sarcina, Schimmelpilze und viele andere Arten gut gedeihen. Die Mikroorganismen blieben auch nach 6 monatigem Aufenthalt auf hydrolysierter Gelatine am Leben.

1 l solchen Hydrolysats, welches etwa 100 g Trockensubstanz enthielt, wurde mit Proteus geimpft. Nach dem Verlaufe von 6 Monaten habe ich die Flüssigkeit untersucht.

1. 25 ccm Biolysat-Hydrolysat mit 2,4285 g Trockensubstanz gaben
   bei 1. H_2SO_4-Destillation: 16 ccm $^n/_{10}$-NaHO,
   bei 1. NaHO-Destillation: 51,5 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4,
   bei 2. H_2SO_4-Destillation: 7,85 ccm $^n/_{10}$-NaHO.

Im ganzen wurden
23,85 ccm $^n/_{10}$-NaHO erhalten, was 5,90% Essigsäure entspricht,
und 51,5 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 2,96% N entspricht.

2. Das Hydrolysat des Glutins wurde mit Penicillium geimpft und nach 6 Monaten untersucht.

25 ccm Biolysat-Hydrolysat mit 2,4490 g Trockensubstanz gaben
   bei 1. H_2SO_4-Destillation: 5,65 ccm $^n/_{10}$-NaHO,
   bei 1. NaHO-Destillation: 35,8 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4,
   bei 2. H_2SO_4-Destillation: 38,9 ccm $^n/_{10}$-NaHO.

Im ganzen wurden

44,55 ccm $^n/_{10}$-NaHO erhalten, was 7,27% Essigsäure entspricht,

und 35,8 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4, was 2,04% N entspricht.

25 ccm des hydrolisierten und dann mit Schimmel biolysierten Glutins (2,449 g) gaben beim Kochen: 0,0335 g CO_2 oder 1,36%.

25 ccm des hydrolysierten und dann mit Proteus biolysierten Glutins (2,4285 g) gaben beim Kochen: 0,0449 g CO_2 oder 1,84%.

50 ccm (4,8570 g) gaben beim Kochen: 0,0847 g CO_2 oder 1,74%.

Aus diesen Versuchen kann gefolgert werden, daß Mikroorganismen auf der hydrolysierten Gelatine gut gedeihen und dabei sowohl Isocyanate, wie auch flüchtige Basen und flüchtige Säuren bildende Substanzen liefern. Aber die Mengen derselben sind trotz andauernder Biolyse auf dem hydrolysierten Substrate weit geringer als sonst. Sollten Isocyanate und Nitrile unmittelbar aus Aminosäuren entstehen, welche zuerst als Produkte der Biolyse auftreten sollen, so sollte man auch erwarten, daß die vorhergegangene Hydrolyse die Ausbeute der Isocyanate und Nitrile fördern würde. Das ist aber nicht der Fall. Bei erschöpfender Ätherextraktion des mit Schimmel biolysierten Hydrolysates des Glutins enthielt der Auszug überhaupt keine flüssigen Säuren, und nur eine unbedeutende Menge einer festen Säure, welche der geringen Menge wegen nicht identifiziert werden konnte. Die im unzersetzten Glutin vorhandenen Gruppierungen sind für die Bildung der Isocyanate und Nitrile viel geeigneter als die durch Zersetzung des Glutins stammenden Aminosäuren.

Eigentlich besitzen wir bisher keinen sicheren Beweis dafür, daß Aminosäuren-Ketten wirklich die Bausteine eines lebensfähigen Eiweißkörpers sind. Das ist nur eine Hypothese, welche aus der Tatsache hergeleitet ist, daß Aminosäuren bei den Eiweißspaltungen als Endprodukte entstehen. Es ist nicht zu verkennen, daß die Hydrolyse hauptsächlich ein Verseifungsprozeß ist; Peptide können aber nur gespalten, nicht verseift werden. Die Hypothese, daß die Aminosäuren keine Bausteine, sondern sekundäre, synthetische Produkte der Hydrolyse des Eiweißstoffes darstellen, scheint uns auf Grund der Beobachtungen, welche wir bei der Biolyse des Glutins gesammelt haben, mehr berechtigt zu sein.

Über die Stickstoffverteilung im Hundeharne bei subchronischer Phosphorvergiftung.

(Ein Beitrag zur funktionellen Diagnostik der Leberkrankheiten.)

Von

Hiromu Ishihara (Tokio).

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Prof. O. v. Fürth im physiol. Institute der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 28. April 1912.)

I.

Die Bemühungen, aus dem Studium von Veränderungen in der Zusammensetzung des Harnes Rückschlüsse auf physiologische Geschehnisse im Bereiche des Stoffwechsels zu ziehen, sind ebenso alt, wie die physiologische Chemie selbst, und man hätte eigentlich von vornherein erwarten dürfen, daß diese Bemühungen vor allem der Diagnostik der krankhaften Veränderungen der Leber als des größten, gewissermaßen zentralen parenchymatösen Organes, zustatten gekommen wären. Es hat aber in Wirklichkeit recht lange gedauert, bis von irgend welchen Erfolgen in dieser Richtung etwas verlautet hat, und erst im Verlaufe der letzten Jahre häufen sich die Angaben über Versuche, eine chemische Diagnostik der Leberkrankheiten zu begründen. Soweit ich dieselben übersehe, beziehen sich dieselben hauptsächlich auf die Ausscheidung des Harnstoffes, der Aminosäuren, des Ammoniaks, des Kreatins und Kreatinins, des Urobilinogens sowie auf gewisse, wenig bekannte Substanzen (Polypeptide, Oxyproteinsäuren), die als höhermolekulare Schlackenstoffe des Eiweißstoffwechsels aufgefaßt werden dürfen. Es sei mir gestattet, diejenigen unter diesen Angaben, welche zu dem Gegenstande

meiner eigenen Versuche in unmittelbarer Beziehung stehen, in aller Kürze zu erwähnen.

Im Anschlusse an ältere Angaben über das Auftreten von Leucin und Tyrosin im Harne bei Phosphorvergiftung und akuter gelber Leberatrophie[1]) vermochten E. Abderhalden und P. Bergell[2]) aus dem Harne phosphorvergifteter Kaninchen Glykokoll mit Hilfe der Naphthalinsulfochloridmethode zu gewinnen und daneben noch das Auftreten einer kleinen Menge einer optisch aktiven Aminosäure nachzuweisen. Wohlgemuth[3]) fand im Harne phosphorvergifteter Individuen neben Leucin, Tyrosin und Glykokoll noch Arginin und Alanin, und Neuberg und Richter[4]) waren imstande, das Vorkommen freier Aminosäuren im Blute bei akuter gelber Leberatrophie sicherzustellen.

Auf die zahlreichen Angaben über Veränderungen der Stickstoffverteilung des Harnes bei akuten Infektionskrankheiten, bei Gicht, Diabetes, Leukämie, nach großen Blutverlusten, sowie in der Gravidität gehe ich hier nicht ein, da ihre Beziehung zu Störungen der Leberfunktion zwar vielfach behauptet worden ist, aber keineswegs zweifellos feststeht.

Auch würde es zu weit führen, wenn ich auf die Literatur[5]) über die Versuche, die Leberfunktion durch Anlegen einer Eckschen Fistel, sowie durch Verödung des Leberparenchyms, durch Säureinfusion und dergleichen auszuschalten, eingehen wollte. Alle diese Beobachtungen haben, zusammengehalten mit denjenigen bei Phosphorvergiftung und akuter gelber Leberatrophie, soviel ergeben, daß die Leber zum weitaus größten Teile ausgeschaltet sein kann, ohne daß die Harnstoffbildung deswegen aufgehoben oder auch nur erheblich gestört zu sein brauchte. Bei der in solchen Fällen beobachteten Vermehrung des Ammoniaks auf Kosten des Harnstoffes vom Normalwerte, entsprechend 3 bis 5% des Gesamt-N, bis auf 20% und darüber,

---

[1]) Literatur über Stoffwechselveränderungen bei Phosphorvergiftung und akuter gelber Leberatrophie: C. Neuberg, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 4 II, 336 bis 337, 1910.

[2]) E. Abderhalden und P. Bergell, Über das Auftreten von Monoaminosäuren im Harne von Kaninchen nach Phosphorvergiftung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **39**, 464, 1903.

[3]) J. Wohlgemuth, Zur Kenntnis des Phosphorharns. Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 74, 1904.

[4]) C. Neuberg und P. F. Richter, Über das Vorkommen freier Aminosäuren (Leucin, Tyrosin, Lysin) im Blut bei akuter gelber Leberatrophie. Deutsch. med. Wochenschr. **1904**, 498.

[5]) Literatur über die Harnstoffbildung im Organismus und ihre Beziehung zum Ausfalle der Leberfunktion: A. Magnus-Levy, v. Noordens Handb. d. Pathol. d. Stoffw. **1**, 99 bis 117, 1906. — J. Wohlgemuth, Oppenheimers Handb. d. Biochem. **3** I, 183, 1910. — A. Ellinger, Oppenheimers Handb. d. Biochem. **3** I, 563, 1910.

bleibt es zweifelhaft, inwieweit dieselbe durch eine unmittelbare Störung der Harnstoffsynthese und inwieweit indirekt durch Acidose bedingt sei.

Gläßner[1]) hat eine funktionelle Prüfung der Leber durch Ein verleibung von 20 bis 25 g Glykokoll, Alanin und Asparaginsäure vorgenommen; während Gesunde und fieberhafte Kranke die zugeführten Aminosäuren vollständig verbrannten, erschienen bei Lebersyphilis, Fettleber, Cirrhose und Phosphorvergiftung größere Mengen derselben (20 bis 90%, der eingeführten Menge) im Harne wieder. Weitere Beobachtungen über eine derartige „alimentäre Aminurie" bei Störungen der Leberfunktion rühren von Jastrowitz[2]), Rolla[3]), Masuda[4]) sowie von Falk und Saxl[5]) her. Die letztgenannten, ebenso wie W. Frey[6]) (an der Klinik von D. Gerhardt in Basel) haben neben den Veränderungen der Stickstoffverteilung im Harne auch den Urobilin- (bzw. Urobilinogen-) Gehalt desselben, sowie die alimentäre Lävulosurie zur Beurteilung der Leberfunktion herangezogen. Frey steht auf dem Standpunkte, daß beide Momente gewisse Rückschlüsse auf den Bestand einer Leberinsuffizienz gestatten (die Urobilinurie allerdings nur unter der Voraussetzung, daß eine Verminderung des Koturobilins und ein vermehrter Blutzerfall ausgeschlossen werden kann). Dagegen kommt der Autor zu der Schlußfolgerung, daß die Harnstoff- und Ammoniakausscheidung für Schlüsse auf die Funktion der Leber keine sichere Basis bietet, insofern die NH_3-Ausscheidung z. B. bei Lebercirrhose zwar immer beträchtlich gesteigert erscheint, ähnliche Verhältnisse jedoch auch im Fieber und bei acidotischen Prozessen vorkommen.

Schließlich sei hier angeführt, daß man versucht hat, aus dem Verhalten der Kreatin- bzw. Kreatininausscheidung ein Urteil über die Funktionstüchtigkeit der Leber zu gewinnen. Man hat gemeint, das Kreatinin werde in der Leber durch fermentative Anhydrierung aus dem Kreatin gebildet. Nach Lefmann[7]) haben Leberschädigungen durch Phosphorvergiftung zunächst eine Zunahme, dann aber eine Verminderung der Kreatininausscheidung zur Folge, welche mit einer erhöhten Kreatinausfuhr im Harne Hand in Hand geht. Auch

---

[1]) K. Gläßner, Funktionelle Prüfung der normalen und pathologischen Leber. Zeitschr. f. experim. Pathol. 4, 336, 1907.

[2]) H. Jastrowitz, Versuche über den Glykokollabbau bei Leberschädigungen. Arch. f. experim. Pathol. 59, 463, 1908.

[3]) C. Rolla, Klinische Verwertung der Ausscheidung von Aminosäuren. Pathologica 2, 575, zit. nach dem Jahresber. f. Tierchem. 40, 289, 1910.

[4]) N. Masuda, Zeitschr. f. experim. Pathol. 8, 629, 1911.

[5]) F. Falk und P. Saxl, Zeitschr. f. klin. Med. 73, 131, 325, 1911.

[6]) W. Frey, Zur Diagnostik der Leberkrankheiten. (Aus d. med. Klinik zu Basel.) Zeitschr. f. klin. Med. 72, 383, 1911.

[7]) G. Lefmann, Beiträge zum Kreatininstoffwechsel. (Aus d. med. Poliklinik, Heidelberg.) Zeitschr. f. physiol. Chem. 57, 468, 1908.

tritt nach van Hoogenhuyze und Verploegh[1]) bei degenerativen Prozessen in der Leber (am deutlichsten bei Lebercarcinom) Kreatin angeblich in großen Mengen im Harne auf, und zwar auf Kosten des stark verminderten Kreatinins. Dagegen hatten künstliche Schädigungen der Leber durch Amyl- und Äthylalkohol keinen wesentlichen Einfluß auf die Kreatin- bzw. Kreatininausscheidung[2]). Auch sahen London und Boljarski[3]) ebenso wie Towles und Vögtlin[4]) bei Hunden mit Eckscher Fistel, trotz der Leberausschaltung, keine charakteristische Beeinflussung des Kreatinstoffwechsels.

Bei objektiver Betrachtung dieses ganzen Komplexes von Beobachtungen vermag man sich nicht dem Eindrucke zu entziehen, daß die funktionelle Diagnostik der Leberkrankheiten bisher auf einer recht unsicheren Basis ruht.

Ich bin daher gern einer Aufforderung des Herrn Prof. v. Fürth nachgekommen, mich an dem Beispiele einer subchronischen Phosphorvergiftung beim Hund im Verlaufe einiger mit großer Sorgfalt durchgeführter Stoffwechselversuche davon zu überzeugen, ob die gleichzeitige Beobachtung der Ausscheidung von Gesamtstickstoff, Ammoniak, Aminosäuren, Kreatin, Kreatinin und Urobilin (bzw. Urobilinogen) für die frühe Diagnose einer Störung der Leberfunktion irgend welche sichere Anhaltspunkte darbietet.

II.

Bei unseren Versuchen bemühten wir uns zunächst, die Versuchstiere durch eine gleichmäßige und ausreichende Ernährung ins Stickstoffgleichgewicht zu bringen, sodann aber sehr vorsichtig und langsam eine Vergiftung einzuleiten, welche ganz allmählich zu einer Schädigung der Leberfunktion führen mußte. Daß die chronische Phosphorvergiftung dazu geeignet ist, erscheint durch die Fülle vorliegender Erfahrungen

---

[1]) C. J. C. van Hoogenhuyze und H. Verploegh, Weitere Beobachtungen über die Kreatininausscheidung beim Menschen. (Physiol. Labor., Utrecht.) Zeitschr. f. physiol. Chem. **58**, 161, 1908.

[2]) G. Lefmann, l. c.

[3]) E. S. London und N. Boljarski, Zur Frage über den Anteil der Leber am Kreatinstoffwechsel. Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**, 465, 1909.

[4]) C. Towles and C. Vögtlin, Creatin and Creatinine Metabolism in dogs during feeding and inanition with expecial reference to the function of the liver. Journ. of biol. Chem. **10**, 479, 1911.

sichergestellt. (Bei unseren ersten Versuchen haben wir auf Grund von Fischlers[1]) Angaben eine Steigerung der Schädlichkeiten durch Gaben von Äthyl- und Amylalkohol zu erzielen gesucht.) Es kam nun alles darauf an, dann (und gerade hier lag die besondere Schwierigkeit für unsere Versuche) die Vergiftung derart zu leiten, daß die Nahrungsaufnahme möglichst lange eine normale blieb. Denn nur insoweit konnten unsere Beobachtungen von Wert sein, als es gelingen mochte, ein vorgeschrittenes Vergiftungsstadium zu erreichen, ohne daß die Hunde die dargebotene Nahrung vollständig zu verzehren aufhörten und ohne daß es zu Erbrechen oder zu Durchfällen kam. Der Zeitpunkt, wo letzteres geschah, bedeutete naturgemäß das Ende unserer Versuchsreihe, da ja von da an die uns interessierenden Verhältnisse eine unkontrollierbare Verschiebung erfahren mußten.

Bezüglich der von mir angewandten Versuchsmethodik wäre noch folgendes zu bemerken:

Die Ernährung unserer Versuchshunde erfolgte derart, daß dieselben einmal am Tage 400 g gekochtes Pferdefleisch (das mit der Brühe verabreicht wurde) mit 30 g Schweinefett, außerdem Wasser nach Bedarf erhielten.

Der Harn wurde in einem Stoffwechselkäfig quantitativ aufgefangen. Vielfach gelangte der Mischharn mehrtägiger Portionen zur Untersuchung. In Versuchsreihe 2 war das Versuchstier, eine Hündin, nach Falk operiert worden, und konnte eine genaue Abgrenzung der Tagesmengen des Harnes durch Katheterisation erfolgen.

Der Gesamtstickstoff wurde nach Kjeldahl, das Ammoniak nach dem Vakuumdestillationsverfahren bestimmt, und zwar in Kombination mit der Ermittlung der Aminosäuren nach dem Verfahren von Henriques und Sörensen[2]).

Das Kreatinin wurde nach Folin, die Summe Kreatin und Kreatinin nach Benedict und Myers[3]) ermittelt und die Differenz beider Werte auf Kreatin umgerechnet. Die letztere Methode wurde den Verhältnissen des Hundeharnes auf Grund

---

[1]) Fischler, Über experimentell erzeugte Lebercirrhosen. Arch. f. experim. Physiol. 98, 427, 1908.

[2]) Henriques und Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 134.

[3]) Vgl. Neubauer-Huppert, Analyse des Harnes, 11. Aufl.

einer Serie von Vorversuchen [auf deren detaillierte Wiedergabe ich hier, um Weitschweifigkeiten zu vermeiden, verzichte[1])] derart angepaßt, daß je 5 ccm Hundeharn mit 10 ccm Normalsalzsäure im Autoklaven auf 110 bis 120° $^1/_2$ Stunde erhitzt wurden. Nach dem Erkalten wurden 10 ccm Normalnatronlauge, sodann 15 ccm 1,2%ige Pikrinsäure und 10 ccm 10%iger NaOH hinzugefügt und die Bestimmung nach Folin zu Ende geführt.

Der Nachweis des Urobilins erfolgte nach Schlesinger, die Schätzung der vorhandenen Urobilinogenmenge wurde nach Charnas versucht, doch waren die gefundenen Mengen stets zu gering, um eine exakte Durchführung des Verfahrens zu ermöglichen.

Das Weitere über den Gang meiner Versuche ist aus den beiden tabellarischen Zusammenstellungen I und II zu ersehen.

III.

Versuchen wir es nunmehr uns klarzumachen, welche Folgerungen aus den vorliegenden Versuchsdaten gezogen werden können.

Wir ersehen aus denselben, daß es gelungen ist, die subchronische Vergiftung im Laufe eines bzw. zweier Monate derart zu gestalten, daß die Nahrungsaufnahme keine Störung erfahren hatte und weder Erbrechen noch Durchfälle eingetreten waren. Die Beobachtung der Stickstoffverteilung im

1) Je 10 ccm Hundeharn wurden unter Variation der Menge zugesetzter Normalsalzsäure und der Dauer der Einwirkung im Autoklaven auf 110 bis 120° erhitzt und die Bestimmung nach Folin unter Benutzung eines Pélinschen Calorimeters durchgeführt. Bei Einstellung der Testflüssigkeit ($^n/_2$-$K_2Cr_2O_7$) in dem einen Zylinder auf eine Schichtendicke von 10 mm ergaben sich beispielsweise als Einstellung folgende Werte:

Harn ccm	Menge der Normal-Salzsäure ccm	Einwirkungsdauer Std.	Einstellung des Pélinschen Calorimeters entsprechend einer Schichtendicke von mm
10	10	$^1/_2$	4,6
10	20	$^1/_2$	4,7
10	30	$^1/_2$	7,1
10	40	$^1/_2$	10,6
10	20	1	4,4
10	20	2	4,4
10	20	3	4,5

Tabelle I.

Dachshund (Körpergewicht 5000 g).

Datum	Harn-Volumen in 24 Std. ccm	Gesamtstickstoffausscheidung in 24 Std. g	Kreatinin-N Ausscheidung in 24 Std. g	Kreatinin-N % des Gesamt-N	Kreatin-N Ausscheidung in 24 Std. g	Kreatin-N % des Gesamt-N	Aminosäuren-N Ausscheidung in 24 Std. g	Aminosäuren-N % des Gesamt-N	Ammoniak-N Ausscheidung in 24 Std. g	Ammoniak-N % des Gesamt-N	Anmerkungen
9.—10. I.	350	10,33	0,1203	1,1630	0,2403	2,3240	0,4410	4,265	0,2964	2,868	
10.—11. I.	610	12,60	0,1796	1,4250	0,1337	1,0450	0,4056	3,293	0,3800	3,015	
11.—12. I.	340	11,76	0,1564	1,3690	0,2087	1,7750	0,3552	3,020	0,3209	2,728	
18.—19. I.	450	8,8056	0,1611	1,8110	0,1786	2,0070	0,3735	4,207	0,1890	2,146	
19.—20. I.	555	15,7388	0,1929	1,2190	0,2096	1,3250	0,9816	6,203	0,3127	1,976	10 g Alanin mit 1,573 g N
20.—21. I.	500	15,4560	0,1820	1,1880	0,2609	1,6860	0,4900	3,098	0,4756	3,077	
22.—23. I.	620	12,3600	—	—	—	—	—	—	—	—	
23.—24. I.	850	12,2800	—	—	—	—	—	—	—	—	
24.—25. I.	620	12,8120	—	—	—	—	—	—	—	—	
25.—26. I.	580	12,4236	—	—	—	—	—	—	—	—	
29.—30. I.	670	10,9530	—	—	—	—	0,1266	1,155	0,3939	3,604	
30.—31. I.	630	12,1430	—	—	—	—	0,2866	2,360	0,2403	1,979	10 g asparaginsaures Natrium mit 0,8092 g N
31. I.—1. II.	460	5,7700	—	—	—	—	0,1610	2,790	0,1513	2,622	
2.—3. II.	990	11,9700	—	—	—	—	0,1732	1,446	0,7207	6,018	
3.—4. II.	600	14,7160	—	—	—	—	0,5040	3,424	0,6720	4,566	10 g Asparagin mit 1,876 g N
9.—10. II.	530	12,228	0,1665	1,361	0,3985	3,259	0,2594	2,123	0,5379	4,399	7., 8., 9. II.: je 3 ccm Amylalkohol + 10 ccm Äthylalkohol
12.—13. II.	450	12,923	0,2104	1,630	0,4918	3,812	0,23625	1,831	0,4756	3,686	12., 16. II.: je 1 ccm 1%iges Phosphoröl; 13., 15. II.: je 3 ccm Amylalkohol + 10 ccm Äthylalkohol
19.—20. II.	520	12,783	0,1922	1,545	0,3158	2,471	0,2154	1,709	0,4950	3,874	17., 18., 19., 20., 22. II.: je 1 ccm 1%iges Phosphoröl per os
22.—23. II.	680	16,950	0,1973	1,163	0,2635	1,554	0,3570	2,793	0,6045	3,566	
23.—24. II.	360	9,072	0,1119	1,233	0,1563	1,723	0,1449	1,597	0,3503	3,860	23. II.: 3 ccm Amylalkohol + 10 ccm Äthylalkohol
1.—2. III.	400	9,856	0,1776	1,776	0,2028	2,057	0,3080	3,125	0,1932	1,960	
2.—3. III.	330	9,591	0,1238	1,291	0,1717	1,853	0,3002	3,131	0,2494	2,601	Bilirubin, Urobilin Spur, Urobilinogen nachweisbar
8.—9. III.	250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6., 7., 8. III.: wegen Verunreinigung durch erbrochene Massen nicht untersucht; keine Nahrungsaufnahme; Urobilin ++, Urobilinogen nachweisbar
9.—10. III.	160	3,7398	0,05069	1,355	0,0640	1,722	0,15120	4,042	0,1276	3,413	keine Nahrungsaufnahme; Urobilin sehr deutlich, Urobilinogen deutlich
10.—11. III.	105	2,4990	0,02560	1,025	0,0515	2,061	0,08268	3,308	0,07717	3,088	keine Nahrungsaufnahme; Urobilin ++, Urobilinogen nachweisbar

(Zu den Zeilen 9.—10. I. bis 2.—3. III.:) Nahrung wird regelmäßig und vollständig aufgenommen; weder Erbrechen noch Durchfälle.

Tabelle II.

Dachshündin (Körpergewicht 6500 g).

Datum	Harn-Volumen in 24 Std. ccm	Gesamtstickstoffausscheidung in 24 Std. g	Kreatinin-N		Kreatin-N		Aminosäuren-N		Ammoniak-N		Anmerkungen
			Ausscheidung in 24 Std. g	% des Gesamt-N	Ausscheidung in 24 Std. g	% des Gesamt-N	Ausscheidung in 24 Std. g	% des Gesamt-N	Ausscheidung in 24 Std. g	% des Gesamt-N	
14.—15. V.	360	7,658	0,1287	1,680	0,5907	7,714	0,1008	1,316	0,0927	1,209	Gravidität (14.—18. V.)
15.—16. V.	470	11,470	0,1409	1,228	0,6085	5,308	0,1974	1,720	0,0757	0,659	
16.—17. V.	720	8,185	0,1706	2,085	0,4032	4,926	0,0756	0,923	0,3074	3,755	
17.—18. V.	780	8,642	0,1724	1,993	0,7363	8,513	0,2456	2,840	0,2073	2,398	
30.—31. V.	440	16,845	0,2102	1,248	0,2842	1,687	0,5082	3,017	0,2805	1,627	22. V. Niederkunft, seit 27. V. Jungen weggenommen
31. V.—1. VI.	760	12,811	0,1561	1,218	0,0131	0,102	0,5586	4,360	0,2340	1,827	3., 6., 9., 12. VI.: je 0,001 g P
10.—12. VI.	385	10,6935	0,1850	1,730	0,1109	1,030	0,3234	3,024	0,2614	2,440	Spur Urobilin
15.—16. VI.	370	8,909	0,1493	1,676	0,1140	1,280	0,2460	2,761	0,2460	2,761	Spur Urobilin —; 16. VI.: 10 g asparaginsaures Na mit 0,8092 g N
16.—17. VI.	410	10,363	0,1651	1,609	0,1548	1,548	0,2870	2,796	0,0774	0,755	
17.—18. VI.	410	8,724	0,1198	1,373	0,2455	2,814	0,2583	2,905	0,1035	1,186	
19.—21. VI.	505	12,612	0,1768	1,401	0,1156	0,916	0,5834	4,628	0,1767	1,403	19. VI.: 0,0015 g P; Spur Urobilin
21.—23. VI.	400	10,595	0,1317	1,243	0,2378	2,244	0,1820	1,717	0,3303	3,117	21. VI.: 0,0015 g P; Spur Urobilin
24.—28. VI.	285	9,512	0,0918	0,965	0,2041	2,146	0,1147	1,205	0,4728	4,971	24. VI.: 0,002 g P
28.—30. VI.	475	9,571	0,1515	1,583	0,2379	2,486	0,4073	5,357	0,2394	2,501	28. VI.: 0,0025 g P
30. VI.—1. VII.	—	—	—	—	—	—	—	—	—		30. VI.: 0,003 g P
1.—3. VII.	377	10,809	0,1590	1,478	0,1660	1,501	0,1411	1,309	0,3694	3,418	Spur Urobilin
3.—4. VII.	350	8,624	0,1164	1,350	0,1935	2,244	0,1470	1,704	0,3013	3,494	Spur Urobilin
4.—6. VII.	260	9,799	0,1379	1,408	0,1597	1,630	0,2002	2,043	0,2693	2,748	4. VII.: 0,003 g P; Urobilin vermehrt
6.—8. VII.	333	9,268	0,1282	1,383	0,2200	2,374	0,1048	1,131	0,3837	4,139	Urobilin vermehrt
8.—10. VII.	430	12,569	0,1307	1,039	0,1931	1,537	0,5719	4,549	0,2016	1,604	8. VII.: 10 g asparaginsaures Na mit 0,8092 g N; Spur Urobilin
10.—12. VII.	400	9,563	0,1228	1,284	0,2118	2,214	0,3500	3,659	0,2968	3,103	10. VII.: 0,003 g P: Urobilin vermehrt
13.—17. VII.	272	12,459	0,1063	0,855	0,1482	1,190	0,7901	6,341	0,7501	6,02	13. VII.: 0,003 g P; 17. VII.: 0,003 g P; Spur Urobilin
19.—20. VII.	340	9,139	0,1137	1,244	0,2338	2,558	0,3927	4,296	0,0737	0,873	Urobilin deutlich +; 21. VII.: 0,003 g P
24.—25. VII.	500	7,756	0,1453	1,873	0,2183	2,814	0,1925	2,481	0,2170	2,797	Urobilin deutlich; Urobilinogen deutl.
25.—26. VII.	260	12,346	0,1832	1,482	0,2677	2,163	0,1365	1,105	0,4058	3,287	Urobilin +; 26. VII.: 10 g asparaginsaures Na gegeben (per os); Urobilinogen +; 27. VII.: spontanes Erbrechen und Diarrhöe

Nahrung wird regelmäßig und vollständig aufgenommen. Weder Erbrechen noch Durchfälle. (14.—15. V. bis 24.—25. VII.)

Harne konnte also im Verlaufe relativ langer Zeiträume bei durchaus gleichmäßiger Ernährung durchgeführt werden, was ja natürlich bei klinischen Beobachtungen am Menschen unmöglich ist. Meine Beobachtungen erstrecken sich bis zu jenem vorgeschrittenen Stadium der Vergiftung, das durch Verweigerung der Nahrungsaufnahme, Erbrechen und Diarrhöen charakterisiert erscheint, und das für die uns hier interessierenden Fragen nicht mehr in Betracht kommen kann.

Vom Gesamtstickstoff entfielen auf:

	Versuch 1		Versuch 2	
	Vor Beginn d. Vergiftung %	Während der Vergiftung %	Vor Beginn d. Vergiftung %	Während der Vergiftung %
Ammoniak . . .	1,97—6,01	1,96—4,00	0,65—3,75	0,87—6,02
Kreatin	1,04—2,32	1,55—3,81	1,68—8,51[1]	0,10—2,81
Kreatinin . . .	1,16—1,81	1,16—1,77	1,22—2,08	0,85—1,87
Aminosäuren . .	1,97—6,02	1,96—4,40	0,66—3,75	0,75—6,02

Als Hauptergebnis meiner Versuchsreihen erscheint die Feststellung, daß sich bei der subchronischen Phosphorvergiftung beim Hunde auch in jenen Stadien derselben, welche dem Einsetzen schwerer Ernährungsstörungen unmittelbar vorangingen, von einer Verschiebung der Stoffwechselverteilung in bezug auf die Ausscheidung von Ammoniak, Aminosäuren, Kreatin und Kreatinin nichts zu bemerken war.

Auch den Tatbestand einer alimentären Aminurie vermochte ich bei einer Stichprobe nicht zu konstatieren. In Versuch 1 kam nach Einführung von 10 g racemischen Alanins in der Vorperiode ungefähr die Hälfte des Stickstoffs (vermutlich der nicht in den natürlichen Proteiden enthaltenen Komponente entsprechend) schnell in der Aminosäurefraktion zum Vorschein. 10 g asparaginsaures Natron und 10 g

[1]) Die hohen Kreatinwerte (4,9 bis 8,5% des Gesamt-N) während der ersten Tage der Beobachtung beziehen sich darauf, daß das Tier gravid war. Daß die Gravidität eine Erhöhung der Kreatinausscheidung zur Folge hatte, ist bereits anderweitig beobachtet worden. Der eigentliche Versuch beginnt hier erst einige Wochen nach der Niederkunft des Tieres, dem kurz nach derselben die Jungen weggenommen worden waren.

Asparagin wurden dagegen offenbar recht vollständig verbrannt. Die gleiche Prüfung während der Vergiftungsperiode wurde durch das Einsetzen schwerer Ernährungsstörungen vereitelt. In Versuch 2 wurde gleichfalls die prompte Verbrennung von 10 g asparaginsauren Natrons konstatiert. Hier gelang es, die Beibringung der gleichen Dosis dieser Aminosäure zu einer Zeit zu wiederholen, wo die Phosphorvergiftung bereits seit mehr als 1 Monat im Gange war und wo sich der abnormale Zustand der Leberfunktion bereits durch eine sehr merkliche Urobilinausscheidung verriet. Doch erfolgte auch hier die Verbrennung des asparaginsauren Natrons in ganz normaler Weise.

Die positiven Erfolge anderer Autoren, welche einen merklichen Einfluß der gestörten Leberfunktion auf die Stickstoffverteilung im Harne gefunden haben, werden durch meine negativen Befunde ja sicherlich nicht entkräftet. Auch kann man sich, wenn man will, auf den Standpunkt stellen, daß positive Befunde in derartigen Fragen vielleicht beweisender sind als negative, und daß, solange ich meine Hunde beobachten konnte, i. e. solange schwere Störungen der Nahrungsaufnahme nicht bemerkbar waren, eine schwere Funktionsstörung der Leber eben noch nicht vorhanden sein mochte. Andererseits scheint es mir bei objektiver Betrachtung schon angesichts der beobachteten Urobilinurie recht wenig wahrscheinlich, daß die Phosphorwirkung auf die Leber, welche ja außer aller Frage steht, bei der subchronischen Vergiftung erst ganz plötzlich in den letzten Stadien der Vergiftung einsetzen sollte, und daß meine Versuchshunde also zur Zeit, wo ich sie beobachten konnte, ganz normal funktionierende Lebern gehabt haben sollten. Für viel wahrscheinlicher möchte ich vielmehr die auch mit anderen Erfahrungen übereinstimmende Deutung halten, daß degenerative Leberveränderungen mäßigen Grades immerhin existieren können, ohne daß sie sich durch eine vermehrte Ausscheidung von Ammoniak, Aminosäuren oder Kreatin irgendwie zu verraten brauchten, und von diesem Standpunkte aus habe ich meine Befunde als Beitrag zu der Frage der funktionellen Leberdiagnostik immerhin für mitteilenswert gehalten.

Untersuchungen über den Pankreassaft des Menschen.

Von

K. Glaeßner (Wien).

Erwiderung auf den gleichnamigen Artikel von J. Wohlgemuth in Band 39, Heft 3/4 dieser Zeitschrift.

(Eingegangen am 2. Mai 1912.)

In der erwähnten Arbeit ist eine Reihe von Tatsachen mitgeteilt, die teils zur Kritik herausfordern, teils bereits von mir[1]) und meinen Mitarbeitern, Herrn Dr. H. Popper[2]) und Frau Dr. A. Stauber[3]) seinerzeit mitgeteilt und aufgeklärt wurden, so daß diese Mitteilung W.s nur eine Bestätigung alter, von uns bereits erhobener Befunde darstellt. Diese Umstände lassen es mir als Pflicht erscheinen, im einzelnen die von W. publizierten Befunde zu besprechen.

Zunächst führt W. den schon in mehreren Publikationen mitgeteilten Befund an, daß es ihm im Gegensatz zu mir und Popper gelungen sei, Lab im menschlichen Pankreassaft nachzuweisen. Ich hatte seinerzeit in dem einzigen bisher bekannten Falle von normalem menschlichen Pankreassekret (kein Fistelsekret) kein Lab oder Labzymogen finden können, und auch später waren Popper und ich nicht imstande, bei einem Falle von Pankreasfistelsaft dieses Ferment nachzuweisen. Trotzdem ich diesen Befunden — ob nun Spuren Lab da sind oder nicht — gar keinen wissenschaftlichen Wert beimesse, so muß ich doch gegen die Art des Nachweises von Labferment, wie es W. anzuwenden scheint, meine Bedenken geltend machen. W. aktiviert den Pankreasfistelsaft zunächst, neutralisiert dann, bis er nur ganz schwach alkalisch reagiert, fügt mit $CaCl_2$ versetzte Milch hinzu, stellt das Ganze auf Eis und versetzt das

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 465, 1904.

[2]) Arch. f. klin. Med. **46**, 46, 1908.

[3]) Diese Zeitschr. **25**, 204, 1910.

Gemenge mit einem Gemenge von Serum und $CaCl_2$, um dann im Wasserbad bei 38 bis 40° die Gerinnung zu studieren. Ein so komplizierter Vorgang findet zweifellos im Organismus nicht statt und man muß annehmen, daß, wenn nur mit Hilfe von $CaCl_2$ und Serumzusatz eine Gerinnung erfolgt, der Saft praktisch als frei von Lab bezeichnet werden kann. Aber noch einen zweiten Widerspruch finde ich in der Anwendung dieser Methode: W. meint, daß sein konstant gelungener Nachweis von Lab und Pankreassaft die Behauptung von Pawlow und Parastschuk stütze, daß nämlich Lab und Trypsin identisch sind, eine Theorie, die durch meinen Befund der Abwesenheit von Lab im Pankreassaft haltlos wäre; der Nachweis W.s aber, daß man das Lab am besten dadurch nachweisen könne, indem man das Trypsin durch Serum zerstöre, steht in kontradiktorischem Gegensatz zur Pawlowschen Theorie und bestätigt indirekt wider Willen des Verfassers die Ansicht, daß Lab und Trypsin zwei verschiedene, sicher nicht identische Fermente seien.

Der zweite Punkt, den ich hier besprechen möchte, bezieht sich auf den Nachweis von Erepsin im Pankreassaft, den W. als sein Verdienst beansprucht, obwohl ich in Gemeinschaft mit A. Stauber Erepsin in Pankreasextrakt und Pankreassaft schon vor mehreren Jahren nachweisen konnte. Weiter kommt W. auf Grund neuerer Versuche zu dem Schlusse, daß das Erepsin vom Trypsin grundverschieden ist, weil es nämlich gelingt, Erepsin schon im stark aktiven Zustand im inaktiven Safte nachzuweisen, andererseits weil man durch Serumzusatz das Trypsin hemmen, das Erepsin dagegen verstärken könne. Beides haben wir schon in der 1910 erfolgten Publikation nachgewiesen, wie aus folgenden Stellen unserer Arbeit hervorgeht: „Unsere eigenen Versuche bezogen sich auf käufliches Trypsin, ferner auf Pankreassaftdrüsenextrakte, endlich auf Pankreassaft. Es zeigte sich, daß alle drei Pankreaspräparate neben der stark tryptischen Wirkung auch eine deutlich ereptische Wirkung zeigten,“ S. 209 unserer Arbeit. Ferner: „Bekanntlich gibt es im Blutserum Stoffe, die geeignet sind, die verdauende Wirkung des Trypsins zu hemmen. Wird zu Trypsin eine entsprechende Menge Blutserum hinzugefügt, so

wird dasselbe gegen Eiweiß unwirksam. Die Erepsinwirkung dagegen wird durch Zusatz von Serum nicht tangiert. Man kann durch diese Methode tryptische und ereptische Wirkung scharf trennen," S. 210 unserer Arbeit. Diese Zitate, die sich auch in den Schlußfolgerungen wiederholen, zeigen klar, daß W.s „neue Versuche" nur eine Wiederholung unserer eigenen Versuchsresultate darstellen, und es berührt dies um so sonderbarer, als W. uns selbst nebenher zitiert, ohne jedoch zu erwähnen, daß wir die von ihm gemachten Versuche bereits früher ausgeführt und annähernd dieselben Schlüsse aus ihnen gezogen haben. Ich kann es also mit Rücksicht auf die oben angeführten Zitate aus unserer Arbeit nur als Wiederholung unserer Versuchsresultate auffassen, wenn W. über das Erepsin (gesperrt gedruckt) schreibt: „Es haben sich somit aus den vorliegenden Untersuchungen zwei wichtige Momente ergeben, die dafür sprechen, daß das Erepsin vom Trypsin grundverschieden ist; einmal findet sich das Erepsin schon im tryptisch inaktiven Saft in einem stark aktiven Zustand und zweitens wird seine Wirkung durch Serum erheblich verstärkt, während das Trypsin durch Serum stark gehemmt wird."

Zum Schlusse sei noch einer Beobachtung Ws. gedacht, die den Autor zu wichtig scheinenden Theorien verleitet: er findet nämlich, daß sich im menschlichen Pankreassaft, auch wenn man ihn ständig im Eisschrank hält, intensive proteolytische Vorgänge abspielen. Auch wir haben, wie jeder, der mit solchen Stoffen arbeitet, die Erfahrung gemacht, daß weder Aufenthalt im Eisschrank, noch Zusatz von Toluol menschliche Ex- und Sekrete vor Fäulnis schützen und namentlich dann nicht, wenn schon vorher, wie das bei einem Fistelsekret natürlich ist, die Infektion mit Bakterien erfolgte. Dieser Beobachtung ist somit kaum großer Wert beizulegen.

Über die Beziehungen zwischen Pankreas und Nebennieren.

Von

Karl Glaeßner und E. P. Pick (Wien).

Bemerkungen zu dem gleichnamigen Artikel von D. Minami, diese Zeitschr. **39**, Heft 5/6, S. 381.

(Eingegangen am 2. Mai 1912.)

Vor einigen Jahren haben wir in einer Arbeit[1]) über die gegenseitige Beeinflussung von Pankreas und Nebennieren u. a. feststellen können, daß im Pankreassekret von Menschen und Hunden sich auf die Froschpupille mydriatisch wirkende Substanzen finden lassen, die vorwiegend nach Fleischfütterung auftreten, im übrigen auch bei gemischter Kost sich finden lassen und von der Alkalescenz unabhängig sind. Wir konnten im besonderen zeigen, daß diese Wirkung ungemein wechselt und einer Gesetzmäßigkeit entbehrt. Da neben der Reaktion auf die Froschpupille, welche, wie Pick und Pineles[2]) zuerst fanden, von einer ganzen Reihe von Substanzen geliefert wird, keine andere für Adrenalin charakteristische Reaktion sich nachweisen ließ, so äußerten wir uns damals folgendermaßen: „Es ist demnach weder auf chemischem noch auf biologischem Wege nachzuweisen möglich, daß die im Pankreassekret vorkommende mydriatische Substanz tatsächlich Adrenalin ist."

Wohlgemuth[3]) hat nun in mehreren eigenen Publikationen und in der Veröffentlichung seines Mitarbeiters Minami unsere Befunde nachgeprüft und beide Autoren

---

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **6**, 1909.

[2]) Verhandlungen d. Kongr. f. inn. Med. 25. Kongr., Wien 1908, S. 360.

[3]) Charité-Annalen **35**, 399, 1911; diese Zeitschr. **39**, Heft 3/4, S. 302.

konnten die Tatsache, daß im Pankreassekret von Mensch und Hund sich mydriatische Substanzen nachweisen lassen, vollinhaltlich bestätigen. Selbst unsere Beobachtung, daß nach Fleischfütterung eine konstant positive Wirkung das Saftes auf die Pupille aufzutreten scheint, findet sich in den Versuchsprotokollen von Minami bestätigt, da auch er fand, daß in dem nach Fleischfütterung abgesonderten Saft, dem sogenannten Fleischsaft, im Gegensatz zu der Fütterung mit Brot oder Milch bereits nach 15′ eine maximale Pupillenerweiterung auftrat, nach Milchfütterung erst nach 45′, nach Brotnahrung erst nach 1 Stunde. Bezüglich der Natur der mydriatischen Substanz schreibt Minami: „Ich möchte überhaupt in Zweifel ziehen, daß die dem Pankreassaft zukommende mydriatische Wirkung auf die Gegenwart von Adrenalin zurückzuführen ist.“ Wie aus dem obenerwähnten Zitat unserer Arbeit zu ersehen, ist auch diese Ansicht Minamis unserer Arbeit entlehnt, in der wir ausführlich darlegen, daß eine große Anzahl von Substanzen die mydriatische Wirkung auszuüben vermag. Da der unbefangene Leser der Arbeiten Wohlgemuths und Minamis den Eindruck empfangen muß, als ob die Autoren unsere vor Jahren gewonnenen Resultate modifiziert hätten, sei hier betont, daß diese Publikationen vielmehr eine volle Bestätigung unserer Befunde darstellen.

Wir haben ferner in der oben zitierten Arbeit bei einem Pankreasfistelhunde, der 20 Tage nach der Operation unter den Zeichen hochgradigster Kachexie (bei unverminderter Freßlust) zugrunde ging, die Beobachtung gemacht, daß die Nebennieren ihre Chromierbarkeit verloren hatten und auch die Injektion des Extraktes der Nebennieren keine Blutdrucksteigerung mehr hervorrief; bei der Sektion dieses Tieres hatte sich außer vorgeschrittener allgemeiner Organatrophie nichts Abnormes finden lassen. Wir haben damals die Ansicht geäußert, daß möglicherweise durch das Pankreassekret dem Organismus des Fisteltieres Substanzen, die der Adrenalinbildung nahestehen, entzogen würden. Wohlgemuth prüfte an 4 Pankreasfistelhunden diesen Befund nach. Von diesen Tieren sind nach seinen Versuchsprotokollen 3 an Peritonitis und Pankreasgewebsnekrose gestorben; nur 1 Tier ging aus unbekannten Gründen ein, nachdem es aber nur 12 Tage gelebt hatte;

während selbstverständlich die Befunde an den an Peritonitis und Pankreasgewebsnekrose verendeten Hunden für eine Beweisführung überhaupt nicht in Betracht kommen, zeigte das letztere Tier einen minder deutlichen Schwund der chromaffinen Substanz, welchem jedoch der Autor keinerlei Bedeutung zumessen zu müssen glaubt[1]), zumal der Extrakt noch blutdrucksteigernd wirkte. Dieser Befund Wohlgemuths ist insofern gleichsinnig dem unserigen, als auch hier eine Verminderung des chromaffinen Gewebes eintrat. Daß die Blutdrucksteigerung kein Maß für den relativen Mangel an Nebennierenmark bedeutet, geht aus der übergroßen Empfindlichkeit der Reaktion hervor.

Auf Veranlassung Wohlgemuths hat sein Mitarbeiter Minami bei 2 durch Bickel operierten Tieren unsere Beobachtungen nochmals nachgeprüft. Seine Tiere lebten über 50 Tage; eins ging durch einen Unfall ein, das andere wurde durch Entbluten getötet. Keines der beiden Tiere entsprach den Bedingungen, unter welchen unsere Beobachtungen gemacht worden sind, indem ja beide Tiere, ohne die charakteristischen Erscheinungen aufzuweisen, umkamen. Es ist daher kein Grund vorhanden, daß diese Tiere die von uns beschriebenen Nebennierenveränderungen unseres schwer kachektischen Tieres aufwiesen; in der Tat fand Minami die Chromierbarkeit und die wenig beweisende mydriatische Wirkung des Nebennierenextraktes erhalten.

Aus unseren Darlegungen dürfte genügend hervorgehen, daß die Nachprüfungen Wohlgemuths und Minamis, soweit sie überhaupt verwertbar sind, unsere Versuchsresultate nur zu bestätigen, aber nicht zu erschüttern vermögen.

---

[1]) Die Ansicht Wohlgemuths, daß der Nachweis des Adrenalins nach dem Tode wegen der „enorm leichten Zerstörbarkeit" desselben besonders ungünstig ist und daher dem mikroskopischen Befunde keine ausschlaggebende Bedeutung zukommt, widerspricht den experimentellen Erfahrungen, die zeigen, daß selbst unter ungünstigen Bedingungen 24 Stunden und länger nach dem Tode das Adrenalin in den Organen unverändert nachweisbar bleibt (s. Luksch, Shiota u. a.), so daß der auch von Wohlgemuth beobachtete Schwund der chromaffinen Zellen wohl kaum auf postmortale Vorgänge in den 8 bis 10 Stunden nach dem Tode entnommenen Nebennieren zurückgeführt werden kann, wie dies W. will.

Untersuchungen über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Seliwanoffschen Lävulosereaktion.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. Dr. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 6. Mai 1912.)

Unter obigem Titel hat Harry Königsfeld eine interessante Mitteilung veröffentlicht[1]), an die ich folgende Bemerkungen anschließen möchte.

Zunächst kann ich die Angaben von Königsfeld dahin vollauf bestätigen, daß es nach seiner Arbeitsweise gelingt, mittels der Seliwanoffschen Reaktion 0,1 % Lävulose in dextrosehaltigen Harnen nachzuweisen.

Bezüglich seiner Angaben über die Reaktion von Dextrose mit Säuren und Alkalien muß ich darauf aufmerksam machen, daß aus den mitgeteilten Versuchen leicht unrichtige Schlüsse gezogen werden könnten. Königsfeld hat festgestellt, daß bei Einwirkung konzentrierter Salzsäure (25 % HCl) auf Dextrose bei gewöhnlicher Temperatur durch längere Zeit die Lävulosereaktion eintritt, woraus er auf eine teilweise Umlagerung von Dextrose in Lävulose geschlossen hat. Ich konnte seinen Befund mit Bezug auf den Ausfall der Seliwanoffschen Reaktion bestätigen, habe es aber für notwendig erachtet, mich über den Umfang der Veränderung durch Polarisationsmessung zu informieren. Hierbei erhielt ich das merkwürdige Resultat, daß die Drehung auch nach $3^1/_2$ monatlicher Einwirkung der konz. Salzsäure nicht abgenommen hatte. Hieraus muß man schließen, daß entweder die Lävulosebildung so minimal ist, daß sie sich der quantitativen Bestimmung entzieht, oder —

[1]) Diese Zeitschr. 38, 1912.

was richtiger zu sein scheint — daß wir den Körper, der hier die Seliwanoffsche Reaktion gibt, keineswegs schon als Lävulose ansprechen dürfen.

Was nun die Einwirkung von Alkalien auf Dextrose betrifft, so möchte ich darauf hinweisen, daß ich über diesen Punkt bereits zahlreiche Versuchsreihen in dieser Zeitschrift publiziert habe[1]), aus denen hervorgeht, daß bereits sehr verdünnte Alkalien die Lobry de Bruynsche wechselseitige Umlagerung der Zucker hervorrufen. Diesbezüglich wäre gegen den katalytischen Charakter dieser Reaktion, der ja bereits allgemein anerkannt wird, nichts einzuwenden.

Hingegen hat sich gezeigt, daß gleichzeitig mit dieser Umlagerung der Zucker-, selbst bei der Anwendung verdünntester Alkalien, eine Säurebildung eintritt. Die Titrationen Königsfelds sind mit so geringen Mengen durchgeführt worden, daß die langsame Säurebildung innerhalb der Versuchsfehler fiel. In Anbetracht dieses anscheinenden Widerspruches mit meinen Ergebnissen habe ich die Versuche von Königsfeld mit größeren Flüssigkeitsmengen und geeigneten Titrierlösungen wiederholt und hierbei gefunden, daß auch unter den von Königsfeld gewählten Bedingungen eine deutliche Säurebildung stattfindet.

200 ccm Dextroselösung wurden mit 40 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge versetzt. Zur Titration wurden stets 50 ccm der Lösung genommen und $^{n}/_{10}$-HCl angewendet. Nach 40stündigem Stehen bei Zimmertemperatur wurde in gleicher Weise der Titer bestimmt.

Indicator: Phenolphthalein.

Konzentration der Dextroselösung	Säureverbrauch	
	sofort	nach 40 Std.
$^{1}/_{2}$%	9,10	8,80
1%	9,10	8,70
2%	9,05	8,30
5%	9,10	8,60

Bei längerem Stehen setzte sich die Säurebildung fort, z. B. war bei der $^{1}/_{2}$%igen Dextroselösung der anfängliche Säureverbrauch von 9,1 auf 7,7 nach 94 Stunden zurückgegangen.

[1]) A. Jolles, Zur Kenntnis des Zerfalls der Zuckerarten. Diese Zeitschr. 29, 152, 1910.

Über die photochemische Synthese der Kohlenhydrate unter Einwirkung der ultravioletten Strahlen.

Von

Julius Stoklasa, Johann Šebor und Wenzel Zdobnický.

(Aus der chem.-physiologischen Versuchsstation an der k. k. böhmischen technischen Hochschule Prag.)

(Eingegangen am 18. April 1912.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Hypothese von der Kohlensäureassimilation durch die chlorophyllhaltige Zelle, welche Baeyer[1]) schon im Jahre 1870 aufgestellt hat, findet namentlich durch die neueren Forschungen der Physiologen eine hochwichtige Stütze. Daß bei dem Mechanismus der photochemischen Reaktion als Zwischenprodukt Formaldehyd entsteht, kann nunmehr als sicher angenommen werden.

Loew[2]) und Bokorny[3]) haben durch ihre langjährigen Untersuchungen hierfür einen deutlichen Beweis geliefert. Schon vor 20 Jahren ist Bokorny bei seinen damaligen Versuchen mit formaldehydschwefligsaurem Natrium und Algen zu nachstehenden Resultaten gelangt:

Aus formaldehydschwefligsaurem Natron können grüne Algenzellen Stärke bilden, indem sie das Salz zersetzen und den freiwerdenden Formaldehyd sofort kondensieren.

Es wurde schon seinerzeit gefunden, daß das Licht bei dieser Synthese eine bedeutsame Rolle spielt; bei schwacher Beleuchtung ging die

---

[1]) A. v. Baeyer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 3, 67, 1870.

[2]) O. Loew, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 22, 482, 1889; Centralbl. f. Bakt. 1892, Nr. 14.

[3]) Th. Bokorny, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 9, 103, 1891; Pharm. Centralhalle 43, 204, 1902; Arch f. d. ges. Physiol. 125, 467, 1908; ebenda 128, 565, 1909.

Stärkebildung aus formaldehydschwefligsaurem Natron nur sehr langsam vor sich, im Dunkeln erfolgte kein Stärkeansatz, d. h. es wurde kein Überschuß von Kohlenhydrat erzeugt. Bei guter Beleuchtung trat in völlig entstärkten Pflanzen rasch Stärke auf, die sich zu sehr bedeutenden Mengen anhäufen kann.

Die Versuchspflanzen erfuhren bei Zufuhr jener Formaldehydverbindung eine erhebliche Trockensubstanzvermehrung. Indem Spirogyren in einer 0,1 %igen Lösung von formaldehydschwefligsaurem Natron vegetieren, nimmt die Flüssigkeit rasch und sehr bedeutend an Reduktionsvermögen gegen Kaliumpermanganat ab; das Salz wird verbraucht.

Die früheren Versuche Bokornys an Blütenpflanzen ergaben noch keinen unanfechtbaren positiven Ausschlag.

In der neuesten Arbeit von Bokorny „Ernährung von grünen Pflanzen mit Formaldehyd und formaldehydabspaltenden Substanzen"[1]) bestätigt er nicht nur seine früheren Untersuchungsergebnisse, sondern kommt auch zu demselben Resultate wie Viktor Grafe, daß die Blütenpflanzen von freiem Formaldehyd ernährt werden können.

Tréboux[2]) wies nach, daß Elodea Formaldehyd in ganz verdünnter Lösung gut verträgt. Ebenso haben Bouilhac und Giustiniani[3]) festgestellt, daß Formaldehyd für die grüne Pflanzenzelle als Nährstoff dienen kann.

Bedeutungsvolle Versuche stellte auch Viktor Grafe[4]) an, indem er höheren Pflanzen den Formaldehyd in Gasform zuführte. Diese Experimente machte er zuerst in Gemeinschaft mit L. Ritter von Portheim, dann mit Fräulein Emmy Vieser und schließlich allein. Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß die Pflanzen zunächst in viel höherem Maße das Gift vertragen, wenn es ihnen in Gasform geboten wird. Bohnen konnten noch bei einem Gehalte von 0,4 % der Luft an Formaldehyd, d. i. das 800fache der von Tréboux verwendeten Quantität und mehr als die 10fache Menge des normalen Kohlensäuregehaltes der Luft, ohne jede Schädigung gezogen werden, ja selbst als die Kohlensäure aus dem Kulturgefäß vollkommen ausgeschaltet war, die Pflanzen also lediglich auf Formaldehyd als Nahrung angewiesen waren, gediehen solche Gewächse ebenso oder doch beinahe so, als ob sie in normaler Luft gezogen worden wären. Die in der Formaldehydatmosphäre kultivierten Pflanzen wiesen regelmäßig einen weitaus größeren Zuckergehalt auf[5]).

---

[1]) Th. Bokorny, diese Zeitschr. **36**, 83, 1911.

[2]) Tréboux, Flora **1903**, 73.

[3]) Bouilhac, Compt. rend. **133**, 751, 1901; **135**, 1369, 1902. — Bouilhac und Giustiniani, Compt. rend. **1903**, 1155.

[4]) Viktor Grafe und L. Ritter von Portheim, Österr. Botan. Zeitschr. **1909**, Heft 1. — V. Grafe und Emmy Vieser, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **27**, Heft 7, 1909. — V. Grafe, ebenda **29**, Heft 2, 1911.

[5]) Viktor Grafe, Die biochemische Seite der Kohlensäureassimilation durch die grüne Pflanze. Diese Zeitschr. **32**, Heft 2, 1911.

Daß Formaldehyd in der Tat aus den Chlorophyllapparaten gewonnen werden kann, zeigen uns die Versuche von G. de Pollacci[1]), Usher und Priestley[2]) und L. Gentil[3]).

In der neuesten Zeit ist es Viktor Grafe[4]) gelungen, durch ein rein spezifisches Formaldehydreagens Spuren von Formaldehyd in den assimilierenden Blättern nachzuweisen. Auch ich habe gemeinschaftlich mit E. Senft in meinem Laboratorium Versuche mit dem Grafeschen Reagens an den Blättern mehrerer Pflanzen ausgeführt und Formaldehyd in den Chlorophyllapparaten tatsächlich konstatieren können.

Umfangreiche Untersuchungen über den Nachweis des Formaldehyds in den chlorophyllhaltigen Organen stammen von Schryver[5]). Dieser Forscher konnte die Bildung von Formaldehyd aus Kohlensäure und Wasser unter Einwirkung der Sonnenstrahlen beobachten. Im Dunkeln aber ist kein Formaldehyd entstanden. Die Reaktion von Chlorophyll mit Formaldehyd dürfte sich durch das Gleichgewicht:

$$\boxed{\text{Chlorophyll}} < \begin{matrix} H \\ H \end{matrix} + HCHO \rightleftarrows \boxed{\text{Chlorophyll}} \diamond CH_2 + H_2O$$

ausdrücken lassen. Das Gleichgewicht ist nur in Gegenwart von freiem Formaldehyd aufrechtzuerhalten. Wird also Formaldehyd durch Synthese zu Zuckerarten weggenommen, so zersetzt sich das Chlorophyllaldehydadditionsprodukt. Durch Kohlensäureanhydrid und Sonnenlicht kann es wieder hergestellt werden. Auf diese Weise kann die zur Zuckersynthese in der Pflanze notwendige Menge Formaldehyd reguliert werden. In der chlorophyllhaltigen Zelle findet unter Einwirkung der Sonnenstrahlen aus Kohlensäureanhydrid und Wasser eine fortwährende Synthese von Formaldehyd und eine Kondensation des gebildeten Formaldehyds zu Zuckerarten statt, ohne daß eine Ansammlung von toxischen Mengen Formaldehyds erfolgt.

Im verflossenen Jahre habe ich gemeinschaftlich mit meinem Assistenten W. Zdobnický eine Arbeit „Über die photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Anwesenheit von

---

[1]) G. de Pollacci, Atti, Acad. dei Lincei 1907.

[2]) Fr. L. Usher und J. H. Priestley, Proc. Roy. Soc. 77, 369, 1906.

[3]) L. Gentil, Beiträge zum Nachweis des Formaldehyds in Pflanzen (Rüben). Bull. des Chim. de Sucr. et Dist. 27, 169 bis 179, 1909 bis 1910.

[4]) Viktor Grafe, Über ein neues spezifisches Formaldehydreagens. Österr. botan. Zeitschr. 1906, Nr. 8.

[5]) S. B. Schryver, The Photochemical Formation of Formaldehyde in Green Plants. Proc. Roy. Soc. 82.

Kaliumhydroxyd, in Abwesenheit von Chlorophyll“[1]) ausgeführt, in der wir zu folgenden Resultaten gelangten:

Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Wasser und Kohlendioxyd ohne Gegenwart von Kaliumhydroxyd wird weder Formaldehyd noch Kohlenhydrat gebildet.

Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Wasserdampf und Kohlendioxyd bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd entsteht Formaldehyd, aber gar kein Kohlenhydrat.

Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer sich nicht in statu nascendi befand, bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd wurde kein Formaldehyd und kein Kohlenhydrat gebildet.

Ohne Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer sich in statu nascendi befand, bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd bildete sich Ameisensäure.

Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer sich in statu nascendi befand, bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd bildete sich Zucker.

Die Synthese des Zuckers aus Kaliumbicarbonat, das in Entstehung begriffen ist, und nascierenden Wasserstoff unter Einwirkung der ultravioletten Strahlen haben wir seinerzeit zuerst beobachtet und die Ergebnisse unserer diesbezüglichen Betrachtungen stehen bis jetzt allein da.

Durch die Übertragung unserer Resultate auf die biologischen Vorgänge in der chlorophyllhaltigen Zelle gelangten wir damals zur Ansicht, daß die reine Kohlensäure in der chlorophyllhaltigen Zelle durch den nascierenden Wasserstoff nicht reduziert wird. Die Reduktion findet aus dem Kaliumbicarbonat, das in seiner Entstehung begriffen ist, in der Zelle statt.

---

[1]) Julius Stoklasa und W. Zdobnický, Sitzungsber. d. Wien. Akad., mathem.-naturw. Klasse **119**, Abt. IIb, Oktober 1910. — Julius Stoklasa und W. Zdobnický, diese Zeitschr. **30**, Heft 6, 1911.

Weiter stellten wir auch Versuche an über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation[1]) und fanden, daß die jungen Blätter der etiolierten Keimlinge von Erbsen (Pisum sativum), Mais (Zea mais), Hafer (Avena sativa) und Gerste (Hordeum distichum) unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen schon nach 2 Stunden eine deutliche sattgrüne Färbung angenommen haben, wogegen die dem intensiven Sonnenlicht ausgesetzten noch immer etioliert, also gelb waren. Erst nach 6 Stunden waren die jungen Blätter der Keimlinge, welche dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt waren, genau so sattgrün gefärbt, wie die mit ultravioletten Strahlen belichteten.

Durch das lange Etiolieren in der Dunkelkammer wurde die Lebensenergie des Protoplasmas so stark beeinträchtigt, daß die ultravioletten Strahlen nicht imstande waren, die Bildung des Chorophylls sofort zu bewirken.

Die Versuche mit etiolierten' Blättern von der Zuckerrübe (Beta vulgaris) unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen ergaben, daß man schon nach 1 Stunde bemerken kann, daß die unter der Quecksilberquarzlampe stehenden Blätter zusehends ergrünten. Nach 2 Stunden war ihre Farbe bereits sattgrün, während die dem diffusen Tageslichte ausgesetzten Blätter kaum ihre gelbe Farbe geändert hatten. Bei den belichteten und unbelichteten Blättern wurde weiter folgendes beobachtet:

1. Die Blätter der etiolierten Pflanzen waren ausgesprochen gelb, die Lamina am Rande stark nach einwärts gebogen und zeigten auf der Unterseite sehr stark hervortretende primäre Nerven. Die sekundären Nerven waren kaum sichtbar.

2. Die Blätter derjenigen Pflanzen, welche 14 Stunden lang dem diffusen Tageslicht ausgesetzt wurden, waren grünlichgelb gefärbt, die Lamina fast vollkommen aufgerollt und auf der Unterseite zeigten sich deutlich hervortretende sekundäre Nerven.

3. Die von der Quecksilberquarzlampe $13^1/_2$ Stunden lang belichteten Blätter waren intensiv smaragdgrün, die

---

[1]) Julius Stoklasa, Emanuel Senft, Franz Straňák und W. Zdobnický, Über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation. Centralbl. f. Bakt. Abt. II, **31**, Heft 16/22, 1911.

Lamina ganz ausgebreitet und am Rande stark gekraust. Die Unterseite zeigte sämtliche Nerven vollkommen ausgebildet und selbst die feinsten derselben traten mit großer Schärfe hervor. Die Blätter waren ungemein steif und ziemlich leicht brüchig. Als auffallend muß weiter bezeichnet werden, daß die künstlich belichteten Blätter, welche abgeschnitten und im Wasser aufbewahrt wurden, selbst noch nach einer Woche ihr frisches Aussehen erhalten hatten, wogegen die etiolierten und die dem diffusen Tageslichte ausgesetzten bei dem gleichen Versuche schon nach 3 Tagen ziemlich welk waren.

Als wir die ultravioletten Strahlen auf die Keimlinge von Pisum sativum, Zea mais, Hordeum distichum und Beta vulgaris direkt einwirken ließen, **konnten wir nach 2stündiger Expositionsdauer ein frisches, grünes Aussehen der Blätter bemerken. In den Zellen fand keine Chlorophyllzersetzung statt.**

Die Belichtungsversuche ohne Glaskugel, wo also die ultravioletten Strahlen direkt mit voller Intensität auf die Pflanzen einwirkten, ergaben folgendes:

Bei einer Entfernung der Keimlinge von der Lichtquelle von 30 bis 35 cm wurde durch die direkte Einwirkung der ultravioletten Strahlen bei der Ergrünung der etiolierten Blätter derselbe Effekt erzielt, wie durch die Einwirkung der Lichtstrahlen von der Lampe, die mit einer Glaskugel versehen war. Es läßt sich annehmen, daß Strahlen von einer kürzeren Wellenlänge als $\lambda = 300\,\mu\mu$ auf die Bildung des Chlorophylls in den etiolierten Blättern keinen Einfluß haben.

Durch 1stündige Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf die jungen, grünen Blätter verschiedener Pflanzen wurde beobachtet, daß die Blätter unbeschädigt blieben, nach 2stündiger Bestrahlung tief grün gefärbt waren. Das Chlorophyll erlitt in den Zellen gar keine Veränderung. Nach 4stündiger Expositionsdauer waren nur diejenigen Blätter zusammengeschrumpft, auf welche die ultravioletten Strahlen direkt einwirkten. Nach 4stündiger Insolation wurden die Pflanzen bei diffusem Tageslicht 1 bis 5 Tage beobachtet und gefunden, daß sich die exponierten Teile der Blätter etwas anders färbten,

die anderen Blätter, welche im Schatten waren, jedoch schön grün blieben.

In den Epidermiszellen auf der Oberseite der Blätter färbte sich das Protoplasma braun, manchmal braunschwarz. Diese Veränderungen werden durch den Tod des Protoplasmas hervorgerufen.

Durch 4 stündige Einwirkung der ultravioletten Strahlen wurde nur das Protoplasma in den Epidermiszellen angegriffen, die Chlorophyllkörner im Palissadenparenchym, sowie im Schwammparenchym blieben jedoch gänzlich verschont davor. Das gleiche war auch bei der Unterseite der Epidermiszellen der Fall. Die Beobachtungen von Maquenne und Demoussy, daß das Chlorophyll in den Zellen degeneriert, können sich höchstens auf die Schließzellen beziehen.

Die durch den Einfluß der ultravioletten Strahlen hervorgerufene Bräunung der Blätter läßt sich dadurch erklären, daß das Protoplasma in den Epidermiszellen abgetötet wird, die Chromogene sich an der Luft oxydieren und eine braune, ev. bläulichschwarze Farbe annehmen. Darum geht die Bräunung der Epidermiszellen nicht sofort vor sich, sondern erst später infolge längerer Einwirkung des Sauerstoffs der Luft.

Die Blüten und Blätter der Pflanzen, welche im Glashause gezüchtet wurden, sind viel empfindlicher gegen die Einwirkung der ultravioletten Strahlen als die Blüten und Blätter der Pflanzen, die in der freien Natur vegetierten.

Das Protoplasma der Zellen der Blüten ist nicht so widerstandsfähig gegen den Einfluß der ultravioletten Strahlen, als das Protoplasma der Zellen der grünen Blätter. Die meisten Blüten welken schon nach 2 stündiger Bestrahlung und einige von ihnen sterben ab. Nach 4 stündiger Expositionsdauer aber werden sie alle abgetötet.

Die alkoholische Lösung von Rohchlorophyll wird durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen bei einer Expositionsdauer von 5 bis 60 Minuten nicht zersetzt. Das Absorptionsspektrum war vor und nach der Exposition stets das gleiche. Nach unseren Beobachtungen sind bei der Chlorophyllsynthese die stärker brechbaren Strahlen, welche eine Wellenlänge von $\lambda = 575 - 300\ \mu\mu$ aufweisen, am wirksamsten.

Äußerst empfindlich gegen den Einfluß der ultravioletten Strahlen ist das Mykoplasma der Bakterien. Durch das direkte Belichten mit ultravioletten Strahlen in einer Entfernung von 10 cm in der Dauer von 8 bis 10 Sekunden werden die Azotobacterkulturen vollständig abgetötet. Bei diesem Abtötungsprozeß kommt die Wirkung aller ultravioletten Strahlen, also auch die der kürzeren als $\lambda = 240\, \mu\mu$, zur vollen Geltung.

Diejenigen Strahlen, die durch die Glimmerplatte dringen, sind sogar nach 300 Sekunden nicht imstande, die Azotobacterkulturen zu töten.

Alle diese Beobachtungen lassen erkennen, daß durch eine kurze Einwirkung der ultravioletten Strahlen die Chlorophyllorgane nicht beschädigt werden, aber das Mykoplasma der Bakterien vollständig abgetötet wird.

Unsere Resultate der Versuche über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation[1]) fanden durch die Untersuchungen von A. J. Kluyver[2]) volle Bestätigung.

Nachdem die Ergebnisse unserer Experimente bezüglich der photochemischen Synthese der Kohlenhydrate[3]) schon veröffentlicht waren, publizierte auch Giuseppe Inghilleri[4]) seine Studienresultate über die photochemische Synthese von Sorbose aus Formaldehyd und Oxalsäure. Er hat drei zylindrische, 60 cm lange und 3,5 cm breite Röhren mit 200 ccm 40%iger Formollösung und 12 g reiner, krystallisierter Oxalsäure gefüllt und zugeschmolzen. Vor der Füllung waren sie mit Wasser

---

[1]) Julius Stoklasa, Emanuel Senft, Franz Straňák und W. Zdobnický, Über den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die Vegetation. Sitzungsber. d. Wien. Akad. der Wissenschaften, mathem.-naturw. Klasse, 120, Abt. I, März 1911.

[2]) A. J. Kluyver, Beobachtungen über die Einwirkung von ultravioletten Strahlen auf höhere Pflanzen. Sitzungsber. d. Wien. Akad. der Wissenschaften, mathem.-naturw. Klasse, 120, Abt. I, Dezember 1911.

[3]) Eine vorläufige Arbeit, betitelt „Photochemische Synthese der Kohlenhydrate in Abwesenheit von Chlorophyll", wurde von mir und meinem Mitarbeiter W. Zdobnický schon im September 1910 in der Chem.-Zeitg. Nr. 107 publiziert. Schon zu dieser Zeit habe ich auf dem Internationalen Physiologenkongreß in Wien über dieses Thema einen Vortrag gehalten und den künstlichen Zucker, welcher durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlensäure und Wasserstoff in statu nascendi bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd entstanden ist, demonstriert.

[4]) Dr. Giuseppe Inghilleri, Photochemische Synthese der Kohlenhydrate. Zeitschr. f. physiol Chem. 71, 1911.

und Alkohol sorgfältig gewaschen und dann mit heißer Luft und direkt auf dem Bunsenbrenner ausgetrocknet worden. Zwei derselben wurden in horizontaler Lage dem Sonnenlichte direkt ausgesetzt, die dritte blieb im Dunkeln mit schwarzem Papier umhüllt und sollte nur zur Kontrolle dienen.

Die Röhren enthielten somit die Stoffe, von denen die Kohlenhydratbildung in der Pflanzenzelle nach der bekannten Baeyerschen Hypothese ausgehen sollte, d. i. Formaldehyd, ferner das aus der Oxalsäure unter dem Einflusse der Belichtung herstammende Kohlenoxyd und einen Katalysator. Als solcher konnte in diesem Falle das Glas der Röhre dienen, das eben Alkali- und Erdalkalimetalle enthält.

Während der Zeit, wo die Röhren dem Lichte ausgesetzt wurden, schwankte die Temperatur zwischen -3^{0} und $+20^{0}$C. Eine der Röhren wurde Ende Mai geöffnet und ihr Inhalt untersucht; die zweite wurde noch länger im Sonnenlichte liegen gelassen. Beim Öffnen der Röhre erfolgte eine kleine Explosion, und aus der Flüssigkeit entwickelte sich Gas (wahrscheinlich CO_2). Der Inhalt reagierte stark sauer und roch nach Ameisensäure.

Die Flüssigkeit wurde einer fraktionierten Destillation unterworfen; bei 101^{0}C fing eine farblose, stechend riechende Flüssigkeit zu destillieren an, dann hörte eine Zeitlang die Destillation auf, und die Temperatur stieg auf 112^{0}C.

Mit der allmählichen Zunahme der Temperatur begann die früher wasserhelle Flüssigkeit im Fraktionierkolben braun zu werden und verlor den scharfen Geruch vollständig; daher wurde die Destillation unterlassen.

Die gewonnene Flüssigkeit setzte beim Erkalten eine Menge Krystalle ab, die, in einem Glasröhrchen erwärmt, nach Karamel rochen und sich dunkelrot färbten. Sie waren im Wasser löslich, weniger in Alkohol, hauptsächlich in der Wärme.

Eine konzentrierte wässerige Lösung dieses Körpers nahm ein sirupöses Aussehen an. Bei langsamer Verdunstung schieden sich aus den verdünnten Lösungen regelmäßige, orthorhombische Krystalle aus. Die Krystalle wurden dann einer näheren Untersuchung unterworfen, wobei gefunden wurde, daß es sich hier um eine Monose handelt. Da die mit Methylphenylhydrazin gewonnenen Osazone dunkelgelb gefärbt waren, liegt die Vermutung nahe, daß es sich um eine Ketose handelt. Nach Inghilleri ist die Strukturformel des gewonnenen Kohlenhydrats nachstehende:

$$CH_2OH.(CHOH)_3CO.CH_2.OH.$$

Die des Osazons ist folgendermaßen anzunehmen:

$$\begin{array}{l} CH_2.OH.(CHOH)_3\!-\!\underset{\displaystyle \| \atop \displaystyle N\!-\!NH\!-\!C_6H_5.}{C}\!-\!CH=N\!-\!NH\!-\!C_6H_5 \end{array}$$

Inghilleris Ansicht geht dahin, daß in dem geschlossenen, dem Lichte ausgesetzten Rohre eine echte Synthese vor sich gegangen ist. Sechs Formaldehydmoleküle haben sich vereinigt und die Monose ge-

bildet. Der synthetische Prozeß ist Hand in Hand mit einem Zersetzungs- und einem Oxydationsprozesse gegangen, d. h. Zersetzung der Oxalsäure und Oxydation des Formaldehyds. Was die Natur der photosynthetischen Ketose anbelangt, so zeigen alle Reaktionen, daß es sich hier wahrscheinlich um eine Sorbose handelt.

Die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf die Aldehyde wurde von Richard Přibram und Adolf Franke[1]) studiert. Sie fanden, daß reine Formaldehydlösungen, die mit ultravioletten Strahlen belichtet werden, sich anders verhalten als nicht belichtete. Aus ersteren läßt sich durch Abdampfen eine mit den Wasserdämpfen flüchtige, stark reduzierend wirkende Substanz und ein fester Rückstand gewinnen, der ebenfalls schon in der Kälte auf Kupferlösungen reduzierend wirkt. Nicht belichtete Formalinlösungen hinterlassen dagegen, wie die Kontrollversuche ergeben haben, keine Spur eines Rückstandes, und das Destillat enthält keine in der Kälte reduzierend wirkende Substanz. Der erwähnte Abdampfrückstand löste sich leicht in Alkohol. Die alkoholische Lösung wurde auf dem Wasserbade abgedunstet und der Rückstand im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Das Gewicht desselben betrug 0,2 g.

Die wässerige Lösung von 0,1 g des Rückstandes, der von 40 ccm belichteter Formaldehydlösung herrührte, ergab, mit 20 ccm Fehlingscher Lösung versetzt, in wenigen Sekunden bei Zimmertemperatur (14° C) eine Abscheidung von Kupferoxydul. Die Menge desselben, als metallisches Kupfer durch Reduktion im Wasserstoffstrom bestimmt, betrug 0,0074 g. Mit Phenylhydrazin und Essigsäure entstand in der wässerigen Lösung ein gelbbrauner, krystallinischer Niederschlag, der abfiltriert und mit Wasser so lange gewaschen wurde, bis das überschüssige Phenylhydrazin vollständig entfernt war. Der Rückstand wurde in Alkohol gelöst. Aus der alkoholischen Lösung schießen bei langsamem Verdunsten hellgelbe Nadeln an, und das krystallisierte Osazon schmilzt bei 168° C.

Weitere Untersuchungen Přibrams und Frankes ergaben, daß es sich im vorliegenden Falle um eine Kondensation des Formaldehyds zu Glykolaldehyd handeln könnte. Ob wirklich das Glykolaldehyd-p-nitrophenylosazon oder eine demselben nur bis zu einem gewissen Grade ähnliche Verbindung vorlag, werden erst weitere Experimente beweisen.

Wir haben unsere Untersuchungen über die Bildung der Kohlenhydrate unter dem Einflusse der ultravioletten Strahlen weiter fortgesetzt. Zuerst stellten wir uns die Prämisse, wenn Formaldehyd aus Kohlensäure und Wasser bei Gegenwart von Kali (aus Kaliumbicarbonat) entsteht, so muß durch die Oxydation des Formaldehyds bei Anwesenheit von Kali doch auch Kohlensäure und

---

[1]) Richard Přibram und Adolf Franke, Über Kondensation durch ultraviolettes Licht. Ber. d. Deutsch. chem. Ges., 44. Jahrgang, Nr. 8, 1911.

Wasser sich bilden. Schreiten wir nun diesbezüglich zu unserem ersten Experiment.

Oxydation des Formaldehyds in alkalischer Lösung.

Formaldehyd wurde in einem offenen Gefäß in einer 7%igen Kaliumhydroxydlösung mit ultravioletten Strahlen belichtet. Die Ausführung dieses Versuches erfolgte in folgender Weise: Zu 500 ccm Kaliumhydroxydlösung wurden 20 g chemisch reinen Formaldehyds[1]) zugesetzt. In einer Entfernung von 5 cm von der Lampe stieg die Temperatur der Flüssigkeit auf 58 bis 65° C, und es fand eine ziemlich große Verdunstung des Wassers statt, so daß dieses von Zeit zu Zeit ersetzt werden mußte. Unter diesen Umständen verflüchtigte sich selbstverständlich auch ein Teil des Formaldehyds. Nach dem Versuche reduzierte das Reaktionsgemisch weder die Fehlingsche Lösung noch die ammoniakalische Silberlösung, und es entwickelte sich beim Ansäuern Kohlensäure.

Der zweite Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß in einen dreifach tubulierten Exsiccator eine Glasschale mit Formaldehyd in Kalilauge möglichst nahe an den oberen Rand gestellt wurde, worauf das Gefäß durch eine Glimmerplatte mittels eines angeschraubten Messingringes abgeschlossen wurde. Die Dichtung ist durch einen Gummiring erzielt worden. Die Abbildung unseres Apparates ist in Fig. 1 ersichtlich gemacht. Wir lassen hier eine kurze Erläuterung zu dem Apparatarrangement während des Verlaufes des Versuches in den verschiedenen Stadien folgen.

1. Die Füllung des Exsiccators E mit Sauerstoff. Der Hahn α ist geschlossen. Die Mündung β ist offen, die Mündung γ ist mit dem offenen Sauerstoffgasometer A verbunden.

2. Während der Beleuchtung mittels der Quecksilberquarzlampe. Der Hahn α ist geschlossen. Die Mündung β ist verbunden mit den Waschflaschen C. Die Mündung γ ist geschlossen.

3. Druckausgleich nach dem Ablöschen der Lampe. Der Hahn α ist geschlossen. Die Mündung β ist geschlossen. Die Mündung γ ist verbunden mit der Waschflasche D.

4. Die Probeentnahme des Gases aus dem Exsiccator. Der Hahn α ist verbunden mit den Hempelschen Büretten B. Die Mündung β ist geschlossen. Die Mündung γ ist mit der Waschflasche D verbunden.

---

[1]) Methylalkohol war bloß in Spuren vertreten.

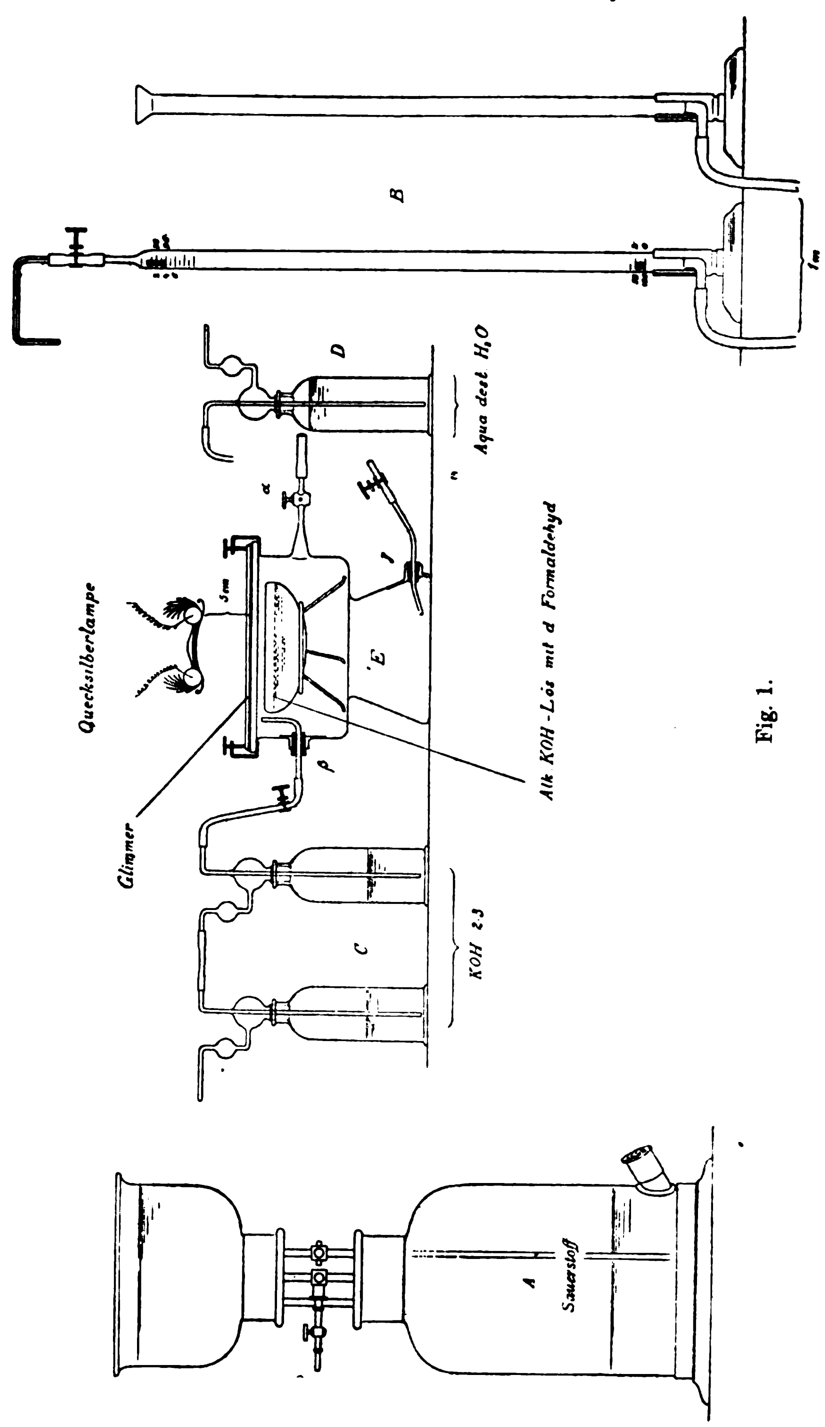

B
1m
D
Aqua dest H₂O
α
Quecksilberlampe
5m
E
Alk KOH-Lös mit d Formaldehyd
β
Glimmer
C
KOH 2:3
A
Sauerstoff

Fig. 1.

In 250 ccm destillierten Wassers wurden 17 g chemisch reinen Kaliumhydroxyds, welches frei von Kohlensäure war, gelöst und zu dieser Lösung 1,5 g chemisch reinen Formaldehyds zugesetzt. Durch das Reaktionsgefäß, in dem sich das Reaktionsgemisch befand, wurde 1 Stunde lang Sauerstoff geleitet, um die Luft zu verdrängen. Sodann wurde ein mit einem Glashahn versehener Tubus mittels eines Kautschukschlauches mit einer Waschflasche verbunden, welche mit kohlensäurefreier Kalilauge gefüllt war. Hierauf erfolgte die Belichtung mittels der Quecksilberquarzlampe in einer Entfernung von 5 cm und dauerte 7 Stunden. Nach dem Versuche wurde mit Hempels Gasbürette ein Teil des Gases abgesaugt, mit Stickstoff gemischt und analysiert. Es enthielt 76,3 % Sauerstoff und 23 % Stickstoff. Kohlenoxyd konnte in dem Gase mittels Blut nach Vogel nicht nachgewiesen werden. Die empfindliche Spektralreaktion hat sich nicht gezeigt. Sodann wurde der Exsiccator geöffnet und der Inhalt in einen $^1/_2$-Liter-Kolben gegeben, der bis zur Marke gefüllt wurde. Die Lösung reduzierte die Fehlingsche Lösung nicht und auch die Grafesche Reaktion auf Formaldehyd (mit 1 %igem Diphenylamin in konz. H_2SO_4) fiel negativ aus.

Hingegen wurde Ameisensäure durch Reduktion einer ammoniakalischen Silberlösung konstatiert. Durch Ansäuerung der Lösung entwickelte sich Kohlendioxyd, und die Chlorbariumlösung bewirkte eine Trübung der Lösung. In den aliquoten Teilen der Lösung wurde die Kohlensäure als $BaCO_3$, die Ameisensäure nach Porter und Ruyssen[1]) durch Reduktion von Quecksilberchlorid, und der Gesamtkohlenstoff nach

[1]) Porter und Ruyssen, Zeitschr. f. anal. Chem. **16**, 250, 1877. Ich verweise hier noch auf die Verbesserung dieser Methode von Auerbach und Plüddemann (Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **17**, 425, 1909, und Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte **30**, 205, 1909) und H. Fincke (Zeitschr. f. Nahrungs u. Genußmittel **21**, 1, 1911). Es ist hier noch zu erwähnen, daß es bei der Bestimmung der Ameisensäure neben Formaldehyd unumgänglich notwendig ist, den Formaldehyd zu entfernen, bevor die Reaktion nach der Gleichung

$$2\,HgCl_2 + HCOOH = Hg_2Cl_2 + CO_2 + 2\,HCl$$

verläuft. Die Angaben von Auerbach und Plüddemann, die ein Verfahren angeben, welches es ermöglicht, die Ameisensäure neben Formaldehyd zu bestimmen, sind nicht exakt.

der Methode von Messinger (die jedoch niedrigere Resultate liefert) quantitativ bestimmt. Es wurde gefunden:

	Analytische Resultate	Umgerechnet auf Kohlenstoff	
	g	g	%
Angewendetes Formaldehyd	1,5	0,599	100,0
Kohlendioxyd	0,423	0,115	19,2
Ameisensäure	1,380	0,360	60,1
Kondensationsprodukte von Formaldehyd	—	0,073	12,2
Gesamtkohlenstoff im Reaktionsgemisch nach dem Versuche	0,548	0,548	91,5
Verluste	—	0,051	8,5

Die Menge der Kondensationsprodukte ist als Differenz berechnet. Der Verlust an Formaldehyd durch Verflüchtigung während des Versuches betrug 0,13 g. Darin sind natürlich auch die Analysenfehler inbegriffen. Die nachgewiesene Menge des Kohlendioxyds von 0,423 g, was umgerechnet auf Kohlenstoff 0,115 g, oder ausgedrückt in Prozenten 19,2 beträgt, ist aus Ameisensäure entstanden, welche sich, wie wir weiter sehen werden, durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen in Kohlensäure und Wasser zersetzt. Es sind daher aus dem Formaldehyd 79,3 % Gesamtkohlenstoff in Form von Ameisensäure entstanden.

Diese Experimente belehren uns, daß unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen aus Formaldehyd nicht sofort Kohlendioxyd und Wasser entsteht, sondern, daß sich aus dem Formaldehyd zuerst Ameisensäure bildet.

Oxydation der Ameisensäure.

Die Versuchsanordnung war hier dieselbe wie im vorhergehenden Falle, nur daß in die Glasschale des Exsiccators anstatt Formaldehyd 1,15 g chemisch reine Ameisensäure, verdünnt mit 250 ccm einer 4%igen Kaliumhydroxydlösung, gegeben wurden. Nach 9 stündiger Belichtung wurde die Lösung wieder in einen $^1/_2$-Liter-Kolben gespült und dieser mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Die Lösung reduzierte ammoniakalische Silberlösung und gab keine Reaktion auf Formaldehyd mit Diphenylamin und Schwefelsäure; sie schäumte mit Säuren auf und gab mit Chlorbariumlösung eine weiße

Trübung. In den aliquoten Teilen wurde das Kohlendioxyd und die Ameisensäure in der in vorliegender Arbeit schon beschriebenen Weise bestimmt.

Von 1,15 g Ameisensäure, die angewandt wurden, blieben 0,931 g unzersetzt, so daß 0,219 g verbraucht worden waren. Aus 0,291 g sollen 0,2093 g Kohlendioxyd entstehen. Gefunden wurden aber 0,189 g, also 90,3 % der theoretischen Menge des Kohlendioxyds. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht der erzielten Resultate.

	Versuchs-resultate	Umgerechnet auf Ameisensäure	
	g	g	%
Angewendete Menge der Ameisensäure	1,15	1,15	100,0
Unzersetzte Menge der Ameisensäure .	0,931	0,931	81,0
Gebildetes Kohlendioxyd	0,189	0,197	17,1
Versuchsfehler	—	0,022	1,9

Die gefundenen analytischen Resultate dokumentieren, daß die Ameisensäure bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen sich in Kohlendioxyd und Wasser zersetzt. Der Formaldehyd wird durch Sauerstoff nach folgenden Reaktionsgleichungen

$$HCOH + O = HCOOH$$

und

$$HCOOH + O = CO_2 + H_2O$$

oxydiert. Es entsteht die Ameisensäure als Zwischenprodukt der Oxydation, die also stufenweise vor sich geht. Die Endprodukte sind Kohlendioxyd und Wasser. Dieser Vorgang berechtigt uns zu der Annahme, daß das eine Umkehrung der Reaktion der photochemischen Assimilation der Kohlensäure ist, welche sich in der chlorophyllhaltigen Zelle abspielt.

Ich habe schon Gelegenheit gehabt, in meinen früheren Arbeiten darauf hinzuweisen, daß unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf das Kohlendioxyd und den Wasserdampf bei Gegenwart von Kali sich geringe Mengen von Formaldehyd bilden. Merkwürdigerweise wurde durch den Einfluß der ultravioletten Strahlen eine starke Formaldehydbildung sowie Kondensation des Zuckers nur dann hervorgerufen, wenn

neben Kohlensäure und Kaliumhydroxyd Wasserstoff in statu nascendi vorhanden ist. Die Photosynthese ist, unserer Anschauung gemäß, nach folgender Gleichung vor sich gegangen:

$$2CO_2 + 2H_2 = 2HCOH + O_2.$$

Bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd kondensiert sich sofort der gebildete Formaldehyd zu Zucker oder zu mehreren Zuckerarten. Unsere neueren Versuche resultierten, daß der Wasserstoff, der in statu nascendi entsteht, nicht nur die Reduktion der Kohlensäure bewirkt, sondern auch die Aufgabe hat, den durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen freiwerdenden Sauerstoff zu binden. Um dies beobachten zu können, haben wir zur Bindung des Sauerstoffs anstatt Wasserstoff Ferroverbindungen verwendet.

Einfluß der ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Gegenwart von Ferroverbindungen[1]).

In die Reaktionsschale, die oben durch eine Glimmerplatte abgeschlossen war, wurden 300 ccm 7%iger chemisch reiner Kaliumhydroxydlösung gebracht und während 8stündiger Belichtung 80 ccm 15%ige Eisensulfatlösung zutropfen gelassen. Gleichzeitig wurde ein starker Strom Kohlendioxyd durchgeleitet. Der Schaleninhalt wurde nach dem Versuche in eine Porzellanschale gespült, mit 10%iger Schwefelsäure schwach angesäuert und nach 2 Stunden die basischen Eisensalze abfiltriert. Die in der Lösung noch vorhandenen Ferro- und Ferri-Verbindungen wurden durch Kaliumphosphat quantitativ ausgeschieden. Das Filtrat wurde sodann im Vakuum auf ein kleines Volumen eingedampft und die Kalisalze mittels Alkohol gefällt. Die Ausfällung der Kalisalze im Filtrate mittels Alkohol wurde mehreremals wiederholt. Die alkoholische Lösung wurde zu Sirup abgedampft, welcher von gelblicher Farbe war. Die Substanz wurde in Wasser gelöst und auf 100 ccm verdünnt. In der abgemessenen Lösung wurde dann die Trocken-

---

[1]) Es scheint uns der Hinweis von Wichtigkeit, daß nach den Feststellungen Neubergs (diese Zeitschr. 27, 271, 1910; 29, 279, 1910) Ferroverbindungen auch für den entgegengesetzten Prozeß der Photokatalyse höchst wirksame Katalysatoren sind.

substanz bestimmt. In einer Platinschale wurde die abgemessene Lösung langsam abgedampft und sodann im Vakuumtrockenapparat bei 80° C getrocknet, gewogen und hierauf langsam verascht. Bei dem Abdampfen konnte ein intensiver Karamelgeruch wahrgenommen werden. An Asche wurden nur ganz geringe Quantitäten gefunden, und in diesen war Eisen nicht nachweisbar. Auf die ursprüngliche Lösung berechnet, bildeten sich 0,51 g organischer Substanz. Mit der Lösung wurden mehrere qualitative Reaktionen auf Zucker vorgenommen. So z. B. bildete sich mit der alkoholischen Lösung mit α-Naphthol beim Einlaufen von konzentrierter, reiner Schwefelsäure, die frei von Salpetersäure war, eine violette Zone. Sodann erfolgte die Reduktion mit Fehlingscher Lösung und das reduzierte Kupfer wurde quantitativ bestimmt. Dazu wurde die bekannte Methode von Allihn in Anwendung gebracht. Das ausgeschiedene Kupferoxydul, das mittels einer Asbestschicht im Goochschen Platintiegel aufgefangen wurde, ist nach erfolgtem Auswaschen reduziert und als metallisches Kupfer gewogen worden.

10 ccm der Lösung lieferten 0,0707 g Kupfer, was auf Glucose berechnet 29,1 mg reduzierender Trockensubstanz entspricht.

Es entstanden also:

0,510 g organischer Stoffe,
0,291 g reduzierender Stoffe,
0,219 g nichtreduzierender Stoffe.

Aus der Lösung wurde das Osazon dadurch gewonnen, daß 60 ccm Lösung mit Phenylhydrazinchlorhydrat und essigsaurem Natron $2^1/_2$ Stunden erhitzt wurden. Das Osazon hatte eine orangegelbe Farbe, schmolz bei 202° C und die Menge desselben belief sich auf 0,09 g, d. s. 51 % der Trockensubstanz. Nach der Umkrystallisation betrug der Schmelzpunkt 204 bis 205° C.

Unsere Untersuchungen haben also ergeben, daß durch den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Gegenwart von Ferroverbindungen eine Synthese der Monosaccharide stattfindet.

Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit unserer vorstehenden Befunde haben wir den Versuch bezüglich des Einflusses der

ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Gegenwart von Ferroverbindungen wiederholt. Die Reaktionsschale war wieder mit einer Glimmerplatte abgeschlossen und es befanden sich dortselbst 300 ccm 7%iger Kaliumhydroxydlösung. Der Abstand der Lampe betrug 4 cm und die Belichtung dauerte 32 Stunden. Das Kohlendioxyd, das zugeführt worden ist, wurde aus Marmor und Salzsäure erzeugt und gut ausgewaschen. Durch die Röhre, welche bis zum Boden des Reaktionsgefäßes reichte, wurde eine 15%ige Lösung von Ferrosulfat langsam durchgeleitet. Insgesamt wurden 180 ccm von der erwähnten Ferrosulfatlösung zugeführt. Nach dem Versuche wurde das Reaktionsgemisch mit destilliertem Wasser in eine Porzellanschale übergespült. Das ganze Reaktionsgemisch wurde mit 10%iger Phosphorsäure schwach angesäuert und dann die ganze angesäuerte Lösung auf dem Wasserbade erwärmt. Hierauf wurde die Flüssigkeit über Asbest filtriert und der Niederschlag gut ausgewaschen. In dem Filtrate wurden die noch verbliebenen Eisenverbindungen mit Kaliumhydroxyd quantitativ ausgeschieden. Der entstandene Niederschlag wurde neuerdings filtriert und nochmals ausgewaschen. Das reine Filtrat wurde mit 10%iger Phosphorsäure schwach angesäuert und dann die Lösung auf dem Wasserbade im Vakuum auf ca. 150 ccm abgedampft. Die Kalisalze wurden dann im Fill trate mittels Alkohol gefällt, welche Prozedur 4 mal wiederholt wurde. Die alkoholische Lösung wurde wieder im Vakuum auf 100 ccm konzentriert. Die Lösung hatte eine gelbweiße Farbe.

Ammoniak-alkalische Silberlösung wurde schon in der Kälte schwarz gefärbt; durch Kochen setzte sich das Silber als Spiegel an das Glas.

Mit der alkoholischen Lösung bildete sich mit α-Naphthobeim Einlaufen von konzentrierter Schwefelsäure eine violette Zone.

In einer Platinschale wurden 5 ccm von dieser Lösung langsam abgedampft, dann im Vakuumtrockenapparat bei 80° C getrocknet, gewogen und langsam verascht.

Das Gewicht der Trockensubstanz betrug . 0,063 g

Die Menge der Asche belief sich auf . . . 0,002 g

Umgerechnet auf 100 ccm der ursprünglichen Lösung ergibt das:

Gesamttrockensubstanz . . . . 1,260 g
Organische Substanz . . . . . 1,220 g
Asche . . . . 0,040 g

In den anderen 5 ccm der Lösung wurde das Reduktionsvermögen mit Fehlingscher Lösung geprüft. Diese 5 ccm Lösung wurden mit destilliertem Wasser auf 25 ccm verdünnt.

Das ausgeschiedene Kupfer pro 5 ccm beträgt . 0,078 g
Auf Glucose berechnet . . . . 0,0398 g
Die Menge der reduzierenden Substanz, auf Glucose berechnet, ergibt in unserem Versuche . 0,796 g

Dieser Versuch hat ebenfalls gezeigt, daß sich durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Anwesenheit von Ferroverbindungen Zucker bildete.

Versuch mit schwefligsaurem Natron.

Der Versuch wurde in ähnlicher Weise wie der vorhergehende ausgeführt, nur daß statt Ferrosulfatlösung eine Lösung von schwefligsaurem Natron zugesetzt wurde. Nach der Neutralisation wurde die Lösung eingedampft, die Salze mit Alkohol abgeschieden und die alkoholische Lösung konzentriert. Die Lösung von gelbbrauner Farbe gab keine α-Naphtholreaktion auf Zucker, reduzierte jedoch einigermaßen die Fehlingsche Lösung. Durch das Abdampfen der reinen Lösungen auf der Platinschale und durch die Verbrennung konnten wir bemerken, daß eine ganz kleine Menge organischer Substanzen vorhanden war. Schwefigsaures Natron bewährte sich für Bindung des Sauerstoffes nicht so gut wie die Ferroverbindungen.

Entsteht Formaldehyd aus Kohlendioxyd und Wasserstoffsuperoxyd unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen?

Phipsen (Chem. News 50, 37, 288) hat die Ansicht ausgesprochen, daß in den Pflanzen durch Einwirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf Kohlendioxyd, Formaldehyd nach der Reaktionsgleichung

$$CO_2 + H_2O_2 = CH_2O + O_2$$

entstehen kann, worauf dann die Zuckerbildung stattfindet. Der Versuch behufs Eruierung, ob diese Reaktion vor sich

geht, wurde von uns auf die Art angestellt, daß in drei Quarzglaseprouvetten eine 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung gebracht und durch enge Röhrchen gereinigtes Kohlendioxyd eingeleitet wurde. Die Eprouvetten waren etwa 7 cm von der Quecksilberquarzlampe schräg gelegt und wurden an der unteren Seite durch mit Wasser benetzte Filtrierpapierstreifen gekühlt. Die Bestrahlung währte 10 Stunden. Die aus der Flüssigkeit entweichenden Gase wurden durch Röhrchen in die Federsche Lösung geleitet. Es wurde keine Formaldehydbildung beobachtet, sondern nur eine Entwicklung von Sauerstoff. Die Lösung enthielt auch nach Zerstörung des Wasserstoffsuperoxydrestes mittels wirksamen Platinschwarz keine reduzierende Substanz.

Derselbe Versuch wurde wiederholt und zwar unter Verwendung von 0,25%iger Kaliumbicarbonatlösung. Nach 10stündiger Belichtungsdauer wurde das Wasserstoffsuperoxyd mittels Platinschwarz zerlegt und sodann mit ammoniakalischer Silberlösung geprüft, jedoch weder Formaldehyd noch Ameisensäure nachgewiesen.

Über den chemischen Charakter des bei der Photosynthese entstandenen Kohlenhydrates.

Bei der Gewinnung der Kohlenhydrate gingen wir in der Weise vor, wie wir in unseren Arbeiten „Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll“ Sitzungsber. d. Wien. Akad., der Wissenschaften mathem.-naturw. Klasse, **119**, Abt. IIb, Oktober 1910 und diese Zeitschr. **30**, 6. Heft, 433, 1911“ beschrieben haben. Jetzt wurden von uns wieder zwei neue solche Versuche ausgeführt, welche die schon früher von uns festgestellten Tatsachen von neuem bestätigten und wobei Phenylosazon in größeren Quantitäten isoliert wurde.

Beim ersten Versuch wurden 150 g Dewardascher Legierung auf den Boden des Reaktionsgefäßes gebracht und 350 ccm 7%iger Kalilauge während 12 Stunden zutropfen gelassen. Nach 12stündiger Belichtung mit der Quecksilberquarzlampe wurde der Inhalt in eine Reibschale gespült und der Niederschlag mit dem Reste der Legierung, die eine feste, kompakte

Masse bildete, zerschlagen und zerrieben, sodann bei 90° C auf dem Wasserbade 2 Stunden unter stetigem Rühren ausgekocht, über Asbest filtriert, der Niederschlag mehreremals gewaschen, das Filtrat mit verdünnter Phosphorsäure neutralisiert, hierauf konzentriert und auf 200 ccm verdünnt. Die Lösung von grünlichgelber Farbe gab nachstehende Reaktionen.

Ammoniak-alkalische Silberlösung wurde schon in der Kälte schwarz gefärbt; durch Kochen setzte sich das Silber als Spiegel an das Glas.

Bei der Nylanderschen Probe mit alkalischer Wismutlösung (von Almèn und Nylander modifizierte Böttgersche Probe) wurde nach einem 2 Minuten lang währenden Sieden Wismut ausgeschieden.

Durch Kochen mit konzentrierter Chlorwasserstoffsäure rotgelbe Färbung.

Mit der alkoholischen Lösung mit α-Naphthol bildete sich beim Einlaufen von konzentrierter, reiner, von Salpetersäure ganz freier Schwefelsäure eine violette Zone.

Mit Resorcin und konzentrierter Salzsäure eine intensiv rote (kirschrote) Färbung, nach einer Weile ein brauner Niederschlag.

Nach der Methode von Allihn wurde aus 10 ccm Lösung das Kupferoxydul abgeschieden und im Goochschen Platintiegel mittels Methylalkohol reduziert; die Menge des Kupfers betrug 116,1 mg, was in der Gesamtlösung 1,182 g reduzierendem Zucker, auf Glucose berechnet, entspricht.

Aus 100 ccm der Lösung wurde dann durch $2^1/_2$ stündiges Kochen mit 6 g Phenylhydrazinchlorhydrat und 15 g essigsaurem Natron (Fischer, Berl. Ber. **17**, 579) ein Osazon in Flocken abgeschieden. Dasselbe wurde aus 75 %igem Alkohol umkrystallisiert, wobei wir zwei Fraktionen erhielten, die erste mit einem Schmelzpunkte von 202 bis 205° C, die zweite mit einem solchen von 203° C. Durch Wasser wurde noch ein Osazon von braungelber Farbe abgeschieden, welches bei 161° C zu sintern begann und bei 190° C schmolz. Die erste Fraktion wurde aus Alkohol 2mal umkrystallisiert und hatte dann einen Schmelzpunkt von 207° C, die zweite nach 2maliger Umkrystallisation einen solchen von 204 bis 205° C. Der letzte Anteil wurde mit Äther extrahiert und lieferte durch Krystallisation

aus 50%igem Aceton ein Osazon mit einem Schmelzpunkte von 194 bis 195° C; nach dem Verdampfen der Ätherlösung blieb ein sehr unreiner Rückstand von braungelber Farbe mit einem Schmelzpunkte von 158 bis 163° C zurück. Die Menge der Osazone betrug im ganzen 0,69 g. Durch Eindampfen der Lösung der ersten Fraktion mit absolutem Alkohol, nach dem Umkrystallisieren des größten Teiles bei 19° C wurde in einer Hofmeisterschen Glasschale auf dem Wasserbade in 20 ccm der Lösung die gelöste Menge bestimmt. Dieselbe betrug 0,0297 g, so daß bei 19° C 1 Teil in 525 Teile absoluten Alkohols gelöst war. Im ganzen wurden in 95 ccm der Lösung etwa 0,14 g gelöst. Die beiden ersten Fraktionen waren gleich. Es wurde auch versucht, die Polarisation der alkoholischen Lösung zu bestimmen, was jedoch nicht gelang.

Dann wurden 10 ccm der ursprünglichen Lösung mit 50 ccm Alkohol gefällt, filtriert, das Filtrat bis zur Trockene eingedampft, gewogen und dann der Aschengehalt bestimmt; 10 ccm der Lösung ergaben 0,0911 g Trockensubstanz und enthielten 0,0115 g Asche, was in der Gesamtlösung, also in 200 ccm, 1,592 g organischer Substanz und 1,182 g reduzierender Stoffe (auf Glucose berechnet) ausmacht. Die Trockensubstanz enthielt 25,8% nichtreduzierender und 74,2% reduzierender Stoffe (auf Glucose berechnet). Die Polarisation der Lösung in einer 200-mm-Röhre betrug 0,15° was einer Drehung von $\alpha_D = 4{,}5$ entspricht.

Ferner wurde auch die Reaktion auf Pentosen vorgenommen. 25 ccm der Lösung, enthaltend 0,16 g organischer Substanz, wurden mit 12% Salzsäure destilliert und das Destillat mit 0,1 g Phloroglucin gefällt. In 2 Tagen zeigte sich eine bräunlichgrüne Trübung, aber kein wägbarer Niederschlag. Die Pentosen waren nur in Spuren vertreten.

Wir probierten auch, nach Neubergs[1]) Methode das Methylphenylosazon der Fructose abzuscheiden, indem wir den Rest der Lösung mit 0,15 g der Substanz, 0,4 g Methylphenylhydrazin, 0,5 g Essigsäure und 5 ccm Alkohol 8 Mi-

[1]) C. Neuberg, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 35, 969, 1902; Zeitschr. d. Vereins d. deutsch. Zuckerind. 52, 246, 1902; Zeitschr. f. physiol. Chem. 36, 227, 1902.

nuten auf dem Wasserbade erwärmten. Die Lösung war getrübt, rot gefärbt, doch die Menge des Osazons genügte nicht einmal zur Krystallisation und Schmelzpunktbestimmung. Wir überzeugten uns aber auch noch durch andere Reaktionen, daß Fructose nur in ganz geringen Quantitäten vorhanden war.

Zum zweiten Versuch, welcher 9 Stunden dauerte, wurden 130 g Dewardascher Legierung und 300 ccm 7 %iger Kalilauge benutzt. Nach dem Versuche wurde die Lösung mit Phosphorsäure neutralisiert, im Vakuum bei 62,5° C eingedampft, die Salze mittels Alkohol gefällt, filtriert und auf 200 ccm aufgefüllt. Die Reduktion der Fehlingschen Lösung ergab aus 5 ccm der Lösung 0,0498 g Kupfer, so daß im ganzen 1,032 g reduzierender Substanz, auf Glucose berechnet, vorhanden waren. Sodann wurde aus 120 ccm der Lösung das Phenylosazon in der oben beschriebenen Weise abgeschieden, dessen Menge 0,432 g betrug. Der Schmelzpunkt belief sich auf 204 bis 205° C.

Die Elementaranalyse ergab:

I. Stickstoff: 0,1311 g Substanz lieferten bei 21,7° C und 745,5 mm Barometerstand 18,4 ccm Stickstoff; es entspricht dies 15,58 %.

II. Kohlenstoff und Wasserstoff: 0,1552 g Substanz ergaben 0,0922 g Wasser, d. s. 6,59 % Wasserstoff und 0,3406 g Kohlendioxyd, d. s. 59,85 % Kohlenstoff.

Es wurde somit gefunden:

		Theoretisch für Hexosazon
Kohlenstoff	59,85 %	60,30 %
Wasserstoff	6,59 %	6,20 %
Stickstoff	15,58 %	15,64 %
Sauerstoff	17,98 %	17,86 %

Die Substanz ist also ein Hexosazon $C_{18}H_{22}N_4O_4$.

Es wurde auch die Menge der Trockensubstanz in der Lösung bestimmt, dieselbe betrug 2,23 g und enthielt 0,77 g Asche. In der Trockensubstanz waren vorhanden:

1,46 g, d. s. 100 % organischer Substanz,
1,03 g, d. s. 70,6 % reduzierender Substanz (auf Glucose berechnet),
0,43 g, d. s. 29,4 % nichtreduzierender Stoffe.

Die von uns angestellten Experimente führen zu dem Resultate, daß das unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen aus Kaliumbicarbonat dargestellte Kohlenhydrat ein Gemisch von Hexosen, bzw. Aldosen und Ketosen, oder deren Osone bildet. Die untersuchte Lösung dieser Hexosen zeigte sich optisch inaktiv. Der von uns erzeugte Zucker ist, wie in unseren früheren Arbeiten schon hervorgehoben wurde, inaktiv oder racemisch.

Von großem Interesse ist gewiß die Frage, ob der von uns gewonnene Zucker durch Saccharomyces cerevisiae gärungsfähig ist. Ich habe mit meinem Mitarbeiter Franz Černý, Adjunkt der gärungsphysiologischen Abteilung unserer Versuchsstation, Gärversuche mit unserem fraglichen Kohlenhydrat vorgenommen, aber gefunden, daß der synthetisch gewonnene Zucker bei Gegenwart von Pepton und allen mineralischen Nährstoffen nicht gärungsfähig ist. Die Menge des gebildeten Kohlendioxyds war fast dieselbe wie bei den blinden Versuchen.

Ferner überzeugten wir uns auch gemeinschaftlich mit unserem Mitarbeiter Dr. Straňák, ob der von uns synthetisch gewonnene Zucker durch die Enzyme der Bakterien, und zwar durch Azotobacter chroococcum, Bact. centropunctatum und Bacillus fluorescens liquefaciens, abgebaut werden kann. Um zu sehen, wie sich die Bakterien in dem bewährten Nährsubstrat entwickeln, bereiteten wir neben der Nährlösung mit künstlichem Zucker ein Nährsubstrat mit Glucose. Das Nährsubstrat mit Glucose wurde in folgender Weise dargestellt:

In 100 ccm Wasser befanden sich 1,4 g Glucose, 0,84 g K_2HPO_4[1]), 0,1 g Na_2HPO_4, 0,0025 g $MgSO_4$, 0,001 g $FeSO_4$ und 0,001 g $Al_2(SO_4)_3$. Mit dieser Lösung wurden die Einhornschen Gärröhrchen gefüllt. Auf dieselbe Art wie eben erwähnt wurde auch die Nährlösung mit künstlichem Zucker (1,4 g in 100 ccm Nährlösung) bereitet, dazu anorganische Nährstoffe zugesetzt und ebenfalls in Einhornsche Gärröhrchen gegeben. Nach gründlicher Sterilisation wurde der Inhalt der Einhornschen Gärröhrchen mit Azotobacter chroococcum geimpft und bei 25°C in der Brut-

[1]) Für die Nährlösung mit Glucose wurde von Kaliumphosphat deshalb ein so großes Quantum benutzt, weil in der Lösung mit synthetisch gewonnenem Zucker dieselben Mengen von Kaliumphosphat als Asche vorhanden waren.

kammer belassen. Nach 5 Tagen konnte man in der Lösung mit Glucose eine starke Bildung einer deutlich weißgrauen, opalisierenden Membrane, welche die ganze Oberfläche der Flüssigkeit überzog, in dem Nährsubstrat mit synthetischem Zucker hingegen ein ganz schwaches Wachstum der Azotobacterkulturen beobachten. Die Entwicklung der Kulturen wurde längere Zeit beobachtet und war nach 14 Tagen unverändert.

Aus diesen Experimenten ist zu ersehen, daß der synthetisch gewonnene Zucker für Azotobacter chroococcum kein gutes dynamoenergetisches Material ist

Um zu erfahren, wie sich die Denitrifikanten, und zwar Bact. centropunctatum und Bacillus fluorescens liquefaciens, zu dem synthetisch gewonnenen Zucker verhalten, stellten wir spezielle Versuche an. Die dazu benutzte Lösung wurde wie folgt bereitet:

In 100 ccm der Lösung waren vorhanden:

1,4 g Glucose,
0,84 g Kaliumphosphat[1]),
0,01 g Natriumphosphat,
0,0025 g Magnesiumsulfat,
0,001 g Ferrosulfat,
0,001 g Aluminiumsulfat und
0,2 g Calciumnitrat.

Diese Lösung wurde gleichfalls in Einhornsche Gärröhrchen gegeben. Auf dieselbe Art wurde auch die zweite Lösung hergestellt, nur mit dem Unterschiede, daß anstatt Glucose das gleiche Quantum von synthetisch gewonnenem Zucker benutzt wurde. Auch damit wurden dann die Gärröhrchen gefüllt. Sodann wurden die Gärröhrchen beider Gruppen, also mit Glucose und künstlichem Zucker, sterilisiert und hierauf mit Bacerium centropunctatum und Bacillus fluorescens liquefaciens geimpft. Schon nach 3 Tagen konnte man beobachten, daß in dem Einhornschen Gärröhrchen mit Glucosesubstrat eine schwache Nitratgärung vor sich ging. Dort, wo künstlicher Zucker vorhanden war, konnte aber keine Bildung von Kohlensäure und elementarem Stickstoff wahrgenommen werden. Dieser Zustand blieb selbst nach 14 Tagen unverändert.

Der synthetisch gewonnene Zucker hat sich für die Denitrifikanten als Nährmedium nicht geeignet. Ebenso konnten wir die charakteristische Nitratgärung bei dem synthetisch gewonnenen Zucker nicht bemerken. Diese Versuche wurden von uns wiederholt mit einem Zucker, welchen wir bei Gegenwart von Ferrosalzen photosynthetisch gewonnen haben.

[1]) Für die Nährlösung mit Glucose wurde von Kaliumphosphat deshalb ein so großes Quantum benutzt, weil in der Lösung mit synthetisch gewonnenem Zucker dieselben Mengen von Kaliumphosphat als Asche vorhanden waren.

Hierbei wurde genau so vorgegangen wie in den früheren Fällen, nur hatte die Nährlösung eine andere Zusammensetzung.

Bei diesen Versuchen benutzten wir unseren synthetisch gewonnenen Zucker, welcher nur ganz geringe Mengen von Asche enthielt, die größtenteils aus Kaliumphosphat bestand. Die Nährlösung mit künstlichem Zucker hatte folgende Zusammensetzung:

I.

In 100 ccm destillierten Wassers waren vorhanden:

0,768 g synthetischer Zucker,
0,026 g Asche, bestehend aus Kaliumphosphat,
0,034 g KH_2PO_4,
0,010 g $MgCl_2$,
0,2 g $Ca(NO_3)_2$,
0,001 g $FeSO_4$,
0,001 g $Al_2(SO_4)_3$,
0,001 g $MnSO_4$.

Mit dieser Lösung wurden 6 Einhornsche Gärröhrchen gefüllt.

Die Nährlösung mit Glucose wies folgende Zusammensetzung auf:

II.

In 100 ccm destillierten Wassers waren zugegen:

0,768 g Glucose,
0,060 g KH_2PO_4,
0,010 g $MgCl_2$,
0,2 g $Ca(NO_3)_2$,
0,001 g $FeSO_4$,
0,001 g $Al_2(SO_4)_3$,
0,001 g $MnSO_4$.

Auch mit dieser Lösung wurden wieder 6 Einhornsche Gärröhrchen gefüllt, die dann sterilisiert und nach dem Inkubationsstadium wie folgt geimpft wurden: Je 3 Gärröhrchen mit Glucoselösung oder künstlichem Zucker wurden mit Bacterium centropunctatum, und je 3 mit Bacillus pyocyaneus geimpft. Wo Glucose vorhanden war und mit Bac. pyocyaneus geimpft wurde, konnte schon nach 3 Tagen eine Nitratgärung beobachtet werden, die in 5 bis 7 Tagen merklich stieg, nach 11 Tagen aber wieder sank. Als die Glucoselösung mit Bact. centropunctatum geimpft wurde, war schon nach 2 Tagen eine Nitratgärung konstatierbar, die nach 6 Tagen wesentlich stieg, nach 10 Tagen aber wieder zurückging. In der Nährlösung mit synthetisch gewonnenem Zucker konnte überhaupt keine Nitratgärung beobachtet werden, und ebenso kein Wachstum beider Denitrifikanten. Auch Nitrite waren nicht vorhanden. Das Gegenteil zeigte sich bei der Glucoselösung, denn dort konnte man eine reichliche Entwicklung der denitrifizierenden Bakterien nachweisen.

Aus diesen biologischen Versuchen geht hervor, daß der von uns synthetisch gewonnene Zucker nicht abbaufähig ist durch Saccharomyces cerevisiae, sowie durch Bakterien, welche elementaren Stickstoff assimilieren, wie Azotobacter chroococcum, und durch die Bakterien, die eine Nitratgärung verursachen, wie Bact. centropunctatum, Bac. pyocyaneus und Bac. fluorescens liquefaciens.

Mechanismus der photochemischen Reaktion.

Durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf das Kaliumbicarbonat entsteht, wie unsere jetzigen Forschungen zeigen, zuerst die Ameisensäure, der Sauerstoff und das Kaliumcarbonat. Die in Entstehung begriffene Ameisensäure wird durch den weiteren Einfluß der ultravioletten Strahlen in Formaldehyd und Sauerstoff zersetzt und der Formaldehyd bei Gegenwart von Kali zu Hexosen kondensiert. Die Hexosen sind, wie bereits gesagt, ein Gemisch von überwiegend Aldosen neben Ketosen. Das frei entstandene Kaliumcarbonat wird beim Hinzutreten von Kohlensäure und Wasser wieder in Kaliumbicarbonat umgewandelt, und dieser Prozeß setzt sich so weiter fort. Die photosynthetische Assimilation der Kohlensäure, wobei das Licht als Energiequelle Verwendung findet, können wir uns bei Gegenwart von Ferroverbindungen in nachstehenden Gleichungen versinnbildlichen:

$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + \text{Licht} = K_2CO_3 + HCOOH + O$$
$$(\text{Licht}) + HCOOH = HCOH + O$$
$$n(HCOH) = (HCOH)n$$
$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + \text{Licht usw.}$$

Daß die Reaktion in der vorerwähnten Weise vor sich geht, läßt sich aus unseren jetzigen Beobachtungen schließen. Wir haben nämlich gefunden: $HCOH + O$ bildet $HCOOH$ und $HCOOH + O$ bildet CO_2

$+H_2O$. Es ist dies also eine Umkehrung der Reaktion, welche bei Gegenwart von Kali unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen stattfindet.

Schon Ad. Lieben[1]) hat in seiner Arbeit „Über Reduktion der Kohlensäure bei gewöhnlicher Temperatur“ gefunden, daß ohne Einwirkung der ultravioletten Strahlen Bicarbonate von Alkali- oder alkalischen Erdmetallen (nicht Magnesium), besonders wenn sie in Entstehung begriffen, d. h. die Bedingungen zu ihrer Bildung gegeben sind, durch nascierenden Wasserstoff leicht, und zwar immer zu ameisensaurem Salz, reduziert werden. Die Befunde Liebens haben wir in unserem Laboratorium bestätigt erhalten. Von großem Interesse ist gewiß, daß bei dem umgekehrten Prozeß, also bei dem Abbau der Hexosen, welcher durch die ultravioletten Strahlen hervorgerufen wird, immer Ameisensäure und Formaldehyd nachgewiesen wird. So haben z. B. Henri Bierry, Victor Henri und Albert Ranc[2]) über die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf gewisse Kohlenhydrate Versuche ausgeführt und 4 bis 10%ige wässerige Lösung von d-Fructose in Quarzgefäßen von 30 ccm Rauminhalt im Vakuum der Einwirkung der ultravioletten Strahlen in 5 bis 10 cm Entfernung ausgesetzt. Hierbei konnten sie die Bildung von Kohlenoxyd, Kohlendioxyd und Formaldehyd feststellen.

Bei Einwirkung von Lichtstrahlen auf Glucose, Fructose, Stärke, Glykogen und Inulin beobachtete C. Neuberg[3]) eine Reihe chemischer Umwandlungen, die durch die Strahlenarten verursacht wurden. Er fand, daß durch den Einfluß der Lichtstrahlen die obenerwähnten Kohlenhydrate gespalten werden, d. h. es tritt eine Hydrolyse der komplizierten Verbindungen zu einfachen ein. Ferner hat Neuberg gezeigt, daß fast alle wichtigen, an sich nicht leicht empfindlichen organischen Substanzen des Tierkörpers sofort beträchtliche Photosensibilität erlangen, wenn sie mit bestimmten anorganischen Salzen den verschiedensten Strahlenquellen ausgesetzt sind.

Paul Mayer[4]) hat über die Zerstörung von Traubenzucker durch Licht Versuche vorgenommen und gelangte zu dem Resultate, daß unter dem Einfluß der ultravioletten Strahlen eine mit Spuren Soda versetzte Traubenzuckerlösung eine charakteristische Änderung erfährt, die anderartig ist als die, welche durch Soda ohne Bestrahlung bewirkt wird. Es entstehen hierbei neben Spuren flüchtiger Säuren Aldehyde sowie Glucoson.

---

[1]) Ad. Lieben, Monatsh. f. Chem. **16**, 3. Heft, Wien 1895.

[2]) Henri Bierry, Victor Henri und Albert Ranc, Compt. rend. des séances de l'Acad. d. Sc. **151**, 316.

[3]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **27**, 271, 1910; **28**, 355, 1910; **29**, 279, 1910.

[4]) Paul Mayer, Über Zerstörung von Traubenzucker durch Licht. Diese Zeitschr. **32**, 1911.

Bei langsamem Abbau des Zuckermoleküls in rein alkalischer Lösung bildet sich stets Ameisensäure. Adolf Jolles[1]) hat gefunden, daß bei sämtlichen Zuckerarten Ameisensäure als Hauptprodukt entsteht, was auch schon Framm[2]), Buchner, Meisenheimer und Schade[3]) beobachteten. Die Ameisensäure ist in der Pflanzenwelt ungemein verbreitet und in den grünen Blättern stets nachweisbar. Ich verweise diesbezüglich auf das umfangreiche Buch von C. Wehmer „Die Pflanzenstoffe"[4]).

Die glucolytischen Enzyme, dargestellt aus Pflanzen- und Tierorganen, verursachen bekanntlich den Abbau der Hexosen. Wir haben bei diesen Prozessen immer als vorletztes Produkt Ameisensäure konstatieren können, welche sich dann in Kohlendioxyd und Wasserstoff zersetzt.

Es ist zweifellos, daß wir die ersten waren, welche unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen die Synthese des Zuckers, seine Identifizierung, und zwar die Bildung von Hexosen (Aldosen, Ketosen) aus Kaliumbicarbonat bei Vorhandensein von nascierendem Wasserstoff oder Ferroverbindungen, beobachtet haben.

Walter Löb behauptet in seinem polemischen Artikel „Photochemische Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll"[5]), sowie in der Chemikerzeitung S. 1331, 1910, daß die von uns unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen erzielten Resultate ebenso wie die von Berthelot und Gaudechon gegenüber seinen früheren Versuchen bezüglich der chemischen Wirkung nichts Neues bringen. Diese Behauptung müssen wir auf das entschiedenste zurückweisen. Wir bemerken ausdrücklich, daß vor unseren Veröffentlichungen anfangs September 1910 keine Arbeit erschienen war, in welcher eine photochemische Synthese des Zuckers aus Kohlensäure und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll nachgewiesen ist. Walter Löb beruft sich auf Beobachtungen, welche er in den Jahren 1905 und 1906[6]) veröffentlicht hat. In diesen Arbeiten konstatierte er:

---

[1]) Adolf Jolles, Einiges über den Zerfall der Zuckerarten. Vortrag, gehalten am 26. September 1911 in der Abteilung für Physiologie, physiol. Chem. u. Pharmakol. auf der Versamml. Deutsch. Naturforscher u. Ärzte in Karlsruhe. Verlag von Moritz Perles, Wien 1911.

[2]) Framm, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **64**, 587, 1896.

[3]) Buchner, Meisenheimer und Schade, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 4217.

[4]) C. Wehmer, Die Pflanzenstoffe, botanisch-systematisch bearbeitet. Verlag von Gustav Fischer, Jena 1911.

[5]) Walter Löb, diese Zeitschr. **31**, 1911.

[6]) Walter Löb, Zeitschr. f. Elektrochemie **1905** und **1906**. — Landw. Jahrb. **1906**.

1. die Bildung des Formaldehyds aus feuchter Kohlensäure,

2. die Bildung des Glykolaldehyds aus feuchtem Kohlenoxyd,

3. die Bildung des Formaldehyds aus feuchter Kohlensäure und Wasserstoff,

4. die Bildung des Glykolaldehyds aus feuchtem Kohlenoxyd und Wasserstoff.

Gerade die Beobachtungen Walter Löbs, die er als etwas Neues ausgibt sind, wie wir schon in unseren früheren Arbeiten hervorgehoben haben, gar nicht neu. Bereits im Jahre 1861 haben Kolbe und Schmitt[1]) gefunden, daß Kalium, unter einer Glocke der Einwirkung feuchter Kohlensäure ausgesetzt, Kaliumformiat bildet. Diesen hochwichtigen Befund bestätigte der Physiologe Maly[2]) im Jahre 1865 und stellte weiter fest, daß die Bedingungen zur Synthese der Ameisensäure aus Kohlensäure dann gegeben sind, wenn nascierender Wasserstoff auf Kohlensäure, welche sich im Moment der Übertragung befindet, und zwar bei Gegenwart einer kräftigen Base, einwirkt.

Lieben[3]) hat, wie schon erwähnt, in seinen hochinteressanten Arbeiten diese Beobachtungen ebenfalls bestätigt. Die Bildung von Formaldehyd und Ameisensäure aus feuchter Kohlensäure und Wasserstoff durch die chemische Wirkung stiller elektrischer Entladungen haben Berthelot[4]), Brodie[5]), Losanitsch und Jovitschitsch[6]) nachgewiesen. Walter Löb fand unter der Einwirkung stiller elektrischer Entladungen lediglich die Bildung von Glykolaldehyd aus feuchtem Kohlenoxyd und Wasserstoff, aber keinen Zucker. Den Zucker stellte er erst aus dem gebildeten Glykolaldehyd dar, in analoger Weise, wie man aus dem Formaldehyd nach bekannten Methoden Kohlenhydrate darstellt. Zu erwähnen ist noch ausdrücklich, daß er den Glykolaldehyd aus feuchtem Kohlenoxyd und nicht aus Kohlensäure erhalten hat, und das verändert gar wohl den qualitativen Reaktionsverlauf, wie wir gegenüber Löbs Ansicht bemerken müssen.

Löb hat auch versucht, seine Resultate auf die biologischen Vorgänge in der chlorophyllhaltigen Zelle zu übertragen. Er stellt sich die pflanzliche Kohlenhydratsynthese so vor, daß sich

$$2\,CO + 2\,H_2O = 2(CO\,H_2) + O_2$$

bildet. Hierzu ist zu bemerken, daß Kohlenoxyd nach unseren Untersuchungen für die chlorophyllhaltige Zelle schon in ganz geringen Quantitäten ein starkes Gift ist. Ich werde noch später zeigen, daß

[1]) Kolbe und Schmitt, Liebigs Annal. d. Chem. 119, 251.

[2]) Maly, Liebigs Annal. d. Chem. 135, 118.

[3]) Lieben, Monatsh. f. Chem., Wien 1895 und 1897.

[4]) Berthelot, Compt. rend. 126, 609, 1898.

[5]) Brodie, Proc. Roy. Soc., London 1873 und Liebigs Annal. d. Chem. 1873 und 1874.

[6]) Losanitsch und Jovitschitsch, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1897.

man aus feuchtem Kohlenoxyd und Wasserstoff nie ein Kohlenhydrat erhält.

Es erübrigt nur noch zu betonen, daß Walter Löb unter der Einwirkung stiller elektrischer Entladungen aus Kohlenoxyd, Wasser und Wasserstoff Glykolaldehyd erhielt[1]), wir hingegen unter dem Einfluß ultravioletter Strahlen der Quecksilberquarzlampe Zucker bekamen. Derartige stille elektrische Entladungen, welche Löb zu seinen Experimenten benutzte, dürften aber kaum in der Natur vorkommen. Die Strahlen der Quecksilberquarzlampe bei unseren Versuchen besitzen einen ganz anderen Charakter und sind in physikalischer und chemischer Hinsicht mit den stillen elektrischen Entladungen Löbs keineswegs identisch.

Es ist ja bereits aus unseren früheren Arbeiten bekannt, daß wir zu unseren Versuchen eine 0,15 mm starke, durchsichtige Glimmerplatte benutzten. Glimmer läßt nicht alle Strahlen der Quecksilberquarzlampe, deren Spektrum bis $\lambda = 225\ \mu\mu$ Wellenlänge reicht, hindurch, sondern nur 80 bis 94% Strahlen von einer Wellenlänge von $\lambda = 425 - 350\ \mu\mu$; es sind dies violette und ultraviolette Strahlen des Sonnenlichtes. Von den Strahlen, welche eine Wellenlänge von $\lambda = 350 - 240\ \mu\mu$ aufweisen (das sind zumeist Strahlen der Quecksilberquarzlampe), läßt Glimmer maximal 60% durch. Von den Strahlen, welche eine Wellenlänge von $\lambda = 240 - 125\ \mu\mu$ besitzen, läßt Glimmer nur 10 bis 30% durch. Strahlen in dieser Wellenlänge sind in dem Lichte der Quecksilberquarzlampe in geringeren Mengen vorhanden[2]).

Gewiß von großem Interesse ist, daß die Azotobacterkulturen durch das direkte Belichten mit ultravioletten Strahlen in einer Entfernung von 10 cm nach 8 bis 10 Sekunden völlig abgetötet werden. Bei diesem Abtötungsprozeß kommt die Wirkung aller ultravioletten Strahlen, also auch die der kürzeren als $\lambda = 240\ \mu\mu$, zur Geltung. Diejenigen Strahlen,

---

[1]) Löb schreibt darüber Nachstehendes: Kohlenoxyd, Wasser und Wasserstoff liefern als Hauptprodukte Ameisensäure und Formaldehyd. Im Gasgemisch ist nach beendeter Einwirkung stets Kohlensäure. Außer der reichlichen Bildung von Formaldehyd läßt sich in dieser Kombination ein zweites Polymerisationsprodukt aus Kohlenoxyd und Wasserstoff, der Glykolaldehyd, nachweisen. Die Bildung dieser Substanz ist für das Assimilationsproblem äußerst wichtig, da der Glykolaldehyd sehr leicht — schon beim Eindampfen oder Trocknen im Vakuum — in Zucker übergeht. Im Gegensatz zu der gewöhnlichen Formaldehydpolymerisation zu Trioxydmethylen, in der Sauerstoffbindung eintritt, bewirkt hier Energiezufuhr ohne chemische Hilfsmittel Polymerisation mit Kohlenstoffbindung. Zeitschr. f. Elektrochemie 1906, 291. 12. Jahrg.

[2]) Nach Nichols beginnt im Ultraviolett Glimmer stark zu absorbieren bei 330 $\mu\mu$; nach Liveing und Dewar beginnt die Absorption bei 310 $\mu\mu$, wird stark bei 295 $\mu\mu$ und vollständig bei 284 $\mu\mu$. H. Kayser, Handb. d. Spektroskopie, Leipzig 1904.

die durch die Glimmerplatte dringen, sind sogar nach 300 Sekunden nicht imstande, die Azotobacterkulturen zu töten[1]), vermögen aber, was sicherlich von Interesse ist, die Zuckersynthese hervorzurufen.

Es kommen in der Tat bei der Zuckersynthese die Strahlen, welche eine Wellenlänge von $\lambda = 575 - 300\ \mu\mu$ (teilweise bis 240 $\mu\mu$) aufweisen, zur vollen Geltung.

Die photochemische Assimilation der Kohlensäure durch die Chlorophyllapparate geht in der Natur vor sich unter Einwirkung der Strahlen, welche eine Wellenlänge von $\lambda = 575 - 300\ \mu\mu$ besitzen. Aus all den hier angeführten Tatsachen läßt sich schließen, daß unsere Zuckersynthese unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen der Quecksilberquarzlampe analog den Verhältnissen, die in der Natur, also in der chlorophyllhaltigen Zelle herrschen, verläuft, nur daß vielleicht die Intensität des Lichtes wegen der geringeren Distanz des Reaktionsraumes eine größere ist.

Auch Fritz Weigert[2]) ist derselben Ansicht wie wir, daß die Versuche von Löb, welcher die Energie in Form stiller elektrischer Entladungen in ein CO_2 und H_2O enthaltendes System einführte, allerdings eine weitgehende Zersetzung der Kohlensäure ergaben, aber kaum einen Schluß auf die durch das Licht bewirkte Assimilation zu ziehen erlauben, da in der Natur stille elektrische Entladungen nur sehr selten vorkommen. Weigert nimmt an, daß auch kurzwelliges ultraviolettes Licht bei der photochemischen Assimilation der Kohlensäure keine Rolle spielt. Diese Anschauung ist aber, wie schon aus dem Vorhergehenden ersichtlich, nicht stichhaltig und kann sich keineswegs auf unsere Versuche beziehen.

Die photosynthetische Assimilation der Kohlensäure in der chlorophyllhaltigen Zelle.

Diesen Prozeß, welcher ein fundamentaler Vorgang bei der Ernährung der Pflanze ist, können wir uns in folgender Weise vorstellen: Die Kohlensäure, die durch die Spaltöffnungen dringt, wird von der chlorophyllhaltigen Zelle sofort absorbiert

---

[1]) Wie es scheint, wirken die ultravioletten Strahlen hemmend auf die Tätigkeit der Enzyme. Über den Mechanismus der Zerstörung der Enzyme durch das Licht hat Henri Agulhon Versuche angestellt. Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **152**, 398.

[2]) Fritz Weigert, Die chemischen Wirkungen des Lichts, Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge **17**, Verlag von Ferdinand Enke, Stuttgart 1911.

und das vorhandene Kaliumcarbonat wird in Kaliumbicarbonat umgewandelt. Das Kaliumbicarbonat gelangt dann in das Protoplasma der Gewebselemente. Die Reduktion des Kaliumbicarbonats, das in seiner Entstehung begriffen ist, wird durch die Lichtenergie bewirkt. Der Mechanismus dieser photochemischen Reaktion geht wie folgt vor sich:

$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + (\text{Licht}) = K_2CO_3 + HCOOH + O$$
$$(\text{Licht}) + HCOOH = HCOH + O$$
$$n\,(HCOH) = (HCOH)n$$
$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + \text{Licht usw.}$$

Der gebildete Formaldehyd kondensiert sich bei Gegenwart von Kali zu Kohlenhydraten.

Neben diesem vorerwähnten Prozeß entsteht wahrscheinlich durch Einwirkung des nascierenden Wasserstoffs die Reduktion des in Entstehung begriffenen Kaliumbicarbonats. Wir wissen ja, daß bei den autotrophen Pflanzen der 1. Prozeß der Kohlendioxydreduktion Aufbau und Assimilation, der 2. gerade im Gegenteil Abbau, Dissimilation ist und man darf wohl vermuten, daß diese beiden Prozesse in kausalem Konnex stehen.

Wir haben schon in unseren früheren Arbeiten darauf hingewiesen, daß bei dem Abbau der Kohlenhydrate durch Einwirkung glucolytischer Enzyme (Atmungsenzyme) Wasserstoff als Endprodukt entsteht und diesem in der chlorophyllhaltigen Zelle eine bedeutungsvolle Funktion bei der Assimilation des Kohlendioxyds zufällt.

In Berücksichtigung unserer bei den biologischen Vorgängen in der chlorophyllhaltigen Zelle erhaltenen Resultate wirft sich zuerst die Frage auf, ob dort genügende Mengen Kali vorhanden sind. In dieser Beziehung haben wir[1]) gemeinschaftlich mit unserem Mitarbeiter Dozent E. Senft in unserem Laboratorium mikrochemische Studien angestellt, aus welchen hervorgeht, daß Kali in den chlorophyllhaltigen Zellen

[1]) Julius Stoklasa und Emanuel Senft, Zemědělský archiv 1911.

stets zugegen ist. Durch die Reaktion von Macallum[1]), welche wir für unsere Zwecke modifiziert haben, konnten wir in sämtlichen assimilierenden Zellen der Zuckerrübe das Vorhandensein von Kalium nachweisen. In der Lamina des Blattes scheint die Verteilung des Kaliums im Mesophyll eine ganz gleichmäßige zu sein. Die Epidermiden sind ärmer an Kalium. Eine Ausnahme davon bilden die Schließzellen und die Nebenzellen derselben. In einzelnen Zellen des Mesophylls kann man mit der Macallum-Methode überaus deutlich nachweisen, daß sich das meiste Kalium um die Chromatophoren herum befindet, denn gerade um die Chromatophoren erfolgt die stärkste Ausscheidung des Niederschlages. Bei den Rippen finden wir, daß das Grundgewebe, die Epidermiden, sowie das subepidermale Gewebe eine fast gleichmäßige Kaliumverteilung aufweisen. Über die spezielle Verteilung des Kaliums in den Organen der Zuckerrübe (Beta vulgaris) haben wir besondere Studien vorgenommen und werden die Ergebnisse derselben demnächst der Öffentlichkeit übergeben.

Th. Weevers[2]) berichtet in seiner Arbeit „Untersuchungen über die Lokalisation und Funktion des Kaliums“, daß die Hauptmenge des Kaliums in den Vakuolen enthalten ist, die Chromatophoren kein Kalium enthalten und Chlorophyll kaliumfrei ist. Diese Behauptung beruht auf total falschen Beobachtungen, denn wir haben nicht nur in den chlorophyllhaltigen Zellen, sondern im Chlorophyll selbst Kalium konstatieren können. Zu einer eigentümlichen Anschauung gelangte Th. Weevers bezüglich der Bedeutung, welche dem Kalium bei dem Stoffwechselprozeß in der Zelle zukommt. Er meint nämlich, daß das Kalium nicht, wie wir annehmen, bei dem Auf- und Abbau der Kohlenhydrate eine Rolle spielt, sondern nur (!!!) bei dem Auf- und Abbau des Eiweißes.

Weevers ist gewiß bekannt, daß man sich die Synthese der hochmolekularen Eiweißstoffe, welche durchwegs kolloidaler Natur sind, so vorstellen kann, daß Ammoniak- und salpetersaure Salze mit den

---

[1]) A. B. Macallum, Journ. of Physiol. 1905. Diese Reaktion beruht bekanntlich darauf, daß das Kobaltnatriumnitrit $CoNa_3(NO_2)_6$ mit Kaliumsalzen eine Verbindung bildet, welche in gelben Dodekaedern krystallisiert und eine Zusammensetzung von Co, K x, Na y, $(NO_2)_6 + n\,H_2O$ liefert. Das Reagens von Macallum hat folgende Zusammensetzung: 20 g Kobaltnitrit, 35 g Natriumnitrit und 75 ccm verdünnte Essigsäure (10 ccm Eisessig enthaltend).

[2]) Th. Weevers, Extrait du Recueil des Travaux botaniques Néerlandais 8, 1911.

Kohlenhydraten im Assimilationsprozeß zusammentreffen. Natürlich können sich Eiweißstoffe nur dann bilden, wenn Kohlenhydrate vorhanden sind. Von zahlreichen Forschern, wie z. B. Hellriegel, Wilfarth, Wimmer usw., sowie durch meine eigenen Untersuchungen wurde nachgewiesen, daß Kali und die Kohlenhydratbildung eng zusammenhängen, so daß man sagen kann, daß das Kali bei der Kohlenhydratbildung beteiligt ist. Wenn also bei der Kohlenhydratsynthese dem Kalium eine wichtige Funktion zugewiesen ist, fällt sie demnach auch den Eiweißstoffen zu.

Daß gebundene Kohlensäure in Form von Bicarbonaten für den Stoffwechsel in Betracht kommt, wissen wir schon aus den alten Versuchen von Raspail[1]), welcher den Gedanken aussprach, daß die Wasserpflanzen imstande seien, die Bicarbonate im Assimilationsprozeß auszunützen.

Neben diesen Versuchen sind auch die Experimente von Draper[2]), Cohn[3]) und Hanstein[4]) zu erwähnen.

Hassack[5]) bemühte sich den Nachweis zu erbringen, daß aus Alkalibicarbonatlösung das Wurzelsystem der Samenpflanzen die Kohlensäure assimiliert. Dieser Forscher konnte tatsächlich eine Ausscheidung von Sauerstoff konstatieren.

Einwandfreie diesbezügliche Untersuchungen machte auch Nathansohn[6]). Er fand, daß in Carbonatlösungen die Assimilation von Kohlensäure stillsteht, dagegen in Bicarbonat intensiv vor sich geht. Nathansohn ist der Ansicht, daß die Kohlensäureionen offenbar durch die Pflanze nicht aufgenommen werden, sondern lediglich der freie gelöste Anteil der Kohlensäure, der in der Carbonatlösung eben sehr gering ist, in der Bicarbonatlösung aber bedeutend größer. Die Hydroxylionen dagegen hindern die Assimilation nicht, wenn die Pflanze andere Kohlensäurequellen zur Verfügung hat und das ist oft tatsächlich der Fall. Wir können häufig beobachten, daß Wasserpflanzen eine geringe Kohlensäuremenge gespeichert enthalten und diese können sie auch in verhältnismäßig stark alkalisch reagierenden Lösungen zur Assimilation verwenden.

U. Angelstein[7]) hat sehr schöne Experimente über die Assimimilation submerser Wasserpflanzen ausgeführt und gelangte zu nachstehenden Ergebnissen:

---

[1]) Raspail, Nouv. système de chim. org., 1833.

[2]) Draper, Ann. chim. phys. (3) **11**, 223, 1844.

[3]) Cohn, Abhdl. d. schles. Ges. **2**, 52, 1862.

[4]) Hanstein, Botan. Zeitung **1873**, 964.

[5]) Hassack, Über das Verhältnis von Pflanzen zu Bicarbonaten und über Kalkinkrustation. Unters. a. d. bot. Inst. Tübingen **2**, 472.

[6]) Nathansohn, Ber. über die Verhdl. d. Kgl. sächs. Ges. d. W., math.-phys. Kl., **59**, 1907. — Stoffwechsel der Pflanzen, Verlag von Quelle & Meyer in Leipzig 1910.

[7]) Udo Angelstein, Untersuchungen über die Assimilation submerser Wasserpflanzen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Breslau 1910.

Die submersen Wasserpflanzen verwenden die Bicarbonate nicht nur gelegentlich bei der CO_2-Zerlegung, sondern diese liefern oft gerade den Hauptanteil der Kohlensäure für den Assimilationsprozeß.

Die Sauerstoffabspaltung ist nicht allein eine Funktion der CO_2-Tension des Wassers, vielmehr ist sie auch abhängig von der Form, in der die Kohlensäure vorhanden ist. **Die Pflanze hat die Fähigkeit, die Bicarbonate aktiv zu spalten und erreicht dadurch eine reichere Zufuhr von CO_2, als in Wasser gleicher CO_2-Tension ohne Bicarbonate.** Sie ist also erst in zweiter Linie von dem Druck der freien Kohlensäure abhängig. Bei Lösungen von gleichem Alkali- resp. Erdalkaligehalte steigt die Assimilation mit dem Kohlensäuredruck, bei Lösungen gleicher CO_2-Tension steigt sie mit dem Gehalt an Bicarbonat. Die Carbonate drücken die Wirkung der Bicarbonate herab, einmal durch ihre Basizität, der Hauptsache nach aber durch Minderung des Kohlensäuredruckes.

In Gemischen von Bicarbonat und Carbonat stellt sich zwischen beiden ein Gleichgewichtszustand her. Die Pflanzen sind imstande, diesen zu verschieben und scheiden noch in Lösungen von einem Teil $KHCO_3$ und zwei Teilen K_2CO_3 Sauerstoffblasen aus.

Der bei der Zerlegung der Kohlensäure frei gewordene Sauerstoff diffundiert durch die gesamte Oberfläche der Pflanze. Bei unverletzten Pflanzen entsteht im Innern ein positiver Gasdruck, der Löslichkeit und Diffusionsgefälle so weit erhöht, daß sich O_2-Ausscheidung und Diffusion das Gleichgewicht halten.

Unerwähnt kann nicht bleiben, daß sich viele untergetaucht lebende Wasserpflanzen, z. B. Elodea, Vallisneria, Ceratophyllum, Chara, Cladophora, Oedogonium, Potamogeton u. a. im Lichte mit kohlensaurem Kalk inkrustieren.

Schon Pringsheim[1]) hat nachgewiesen, daß die Kalkinkrustation nur im Lichte und Hand in Hand mit der Kohlensäureassimilation erfolgt. Ferner zeigte Pringsheim, daß nur dann Inkrustation eintritt, wenn die Wasserpflanzen lebhaft assimilieren. Auch Klebs[2]) kam zu der Ansicht, daß Algen im Lichte das Wasser alkalisch machen und daß sich dies, wenn man dem Wasser etwas wässerige Phenolphthaleinlösung beimischt, durch Rotfärbung kundgibt.

Molisch[3]) hat sich durch seine exakten Versuche überzeugt, daß die Wasserpflanzen im Lichte während der Assimilation der Kohlensäure ein Phenolphthalein rötendes Alkali ausscheiden.

---

[1]) H. Pringsheim, Über die Entstehung der Kalkinkrustation an Süßwasserpflanzen. Jahrb. f. wissensch. Botanik. **19**, 138, 1888.

[2]) G. Klebs, Über die Organisation der Gallerte bei einigen Algen und Flagellaten. Untersuch. a. d. bot. Instit. zu Tübingen, S. 340 bis 341.

[3]) Hans Molisch, Über lokale Membranfärbung durch Manganverbindungen bei einigen Wasserpflanzen. Sitzungsber. d. Wien. Akad. der Wissenschaften, mathem.-naturw. Klasse, **118**, Abt. I, 1909.

In der von uns schon mehreremals zitierten Arbeit von Viktor Grafe „Die biochemische Seite der Kohlensäure-Assimilation durch die grüne Pflanze" äußerte sich dieser Autor zutreffend, daß die bei der Assimilation entstehende Phenolphthalein rötende Base Kaliumcarbonat sei, das im statu nascendi als Bicarbonat die Assimilation der Kohlensäure bewirkt und dann als fertig gebildetes, unwirksam gewordenes Salz ausgestoßen wird, wodurch das Ausbleiben der Alkaliausscheidung bei Nacht erklärt wird.

Oskar Baudisch[1]) stimmt mit den Anschauungen Grafes überein. Er sagt folgendes:

„Diese interessanten hypothetischen Betrachtungen Grafes über die Bildung von Kaliumcarbonat in der assimilierenden Pflanze werden durch meine experimentellen Befunde stark gestützt."

Grafes physiologische Experimente haben aber nicht überall Anklang gefunden. So z. B. behauptete O. Loew[2]), daß nicht kohlensaure Alkalien, sondern eine wasserlösliche Kalkverbindung die Ursache der Rötung ist.

Auch Th. Weevers erklärt sich auf Grund seiner Experimente mit den Anschauungen Grafes nicht einverstanden und äußert sich in seiner bereits zitierten Arbeit in folgender Weise:

„Ich konnte konstatieren, daß schön grüne Endtriebe von Elodea im Lichte in kohlensäurehaltiges, destilliertes Wasser gestellt, niemals die Rötung gaben, ungeachtet der stattfindenden Assimilation; von einer Abscheidung von kohlensaurem Alkali war also durchaus nicht die Rede. Stellte ich die Zweige in destilliertes Wasser, dem eine Calciumcarbonatlösung hinzugefügt wurde, so trat die alkalische Reaktion deutlich hervor. Nach 6 Stunden Assimilation im Sonnenschein war die von den Zweigen (2 g Trockensubstanzgewicht) hervorgerufene Alkalizität 0,5 ccm · 0,1 N, auf K_2O berechnet, also 4,8 mg. Wenn nun das Wasser abfiltriert und in einer Platinschale eingeengt wurde, so war das Resultat einer Kaliumbestimmung mit Natriumkobaltnitrit 0,2 mg; die Rötung des Phenolphthaleins rührt also nicht von der hydrolytischen Spaltung einer Kaliumverbindung her. Diesen Belegen für eine Beteiligung des Kaliums am Assimilationsprozeß kann ich also keinen Wert beimessen." (!)

Wir haben in unserem Laboratorium die Versuche mit Elodea canadensis auf dieselbe Art wie Weevers vorgenommen und gefunden, daß Weevers Experimente total unrichtig ausgeführt worden sind, und selbst wenn dies nicht der Fall gewesen wäre, war Weevers nicht berechtigt aus einem einzigen

---

[1]) Oskar Baudisch, Über Nitrat- und Nitritassimilation und über eine neue Hypothese der Bildung von Vorstufen der Eiweißkörper in den Pflanzen. Zentralbl. f. Bakt., II. Abt., 32, Nr. 20/25, 1912.

[2]) Oskar Loew: Über die physiologische Funktion der Calcium- und Magnesium-Salze im Pflanzenorganismus, Flora 1898.

Versuch den Schluß zu ziehen, daß dem Kalium bei dem Assimilationsprozeß kein Wert beizumessen ist. Unsere Annahme, daß die Kohlensäure durch die Spaltöffnungen dringt und von den chlorophyllhaltigen Zellen absorbiert wird, ferner, daß das Kaliumcarbonat, welches stets in den chlorophyllhaltigen Zellen vorhanden ist, in Kaliumcarbonat umgewandelt wird, ist **keineswegs aus der Luft gegriffen, sondern basiert auf Erfahrungen, die wir bei unseren zahlreichen und exakten Experimenten gewonnen haben und worüber wir demnächst ausführlich berichten werden.**

Zusammenfassung.

1. Unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Formaldehyd bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd bei Luft- oder Sauerstoffzutritt entsteht nicht sofort Kohlendioxyd und Wasser, sondern aus dem Formaldehyd bildet sich zuerst Ameisensäure.

2. Durch den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf die in Entstehung begriffene Ameisensäure wird diese bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd bei Luft- oder Sauerstoffzutritt zu Kohlensäure und Wasser abgebaut.

3. Infolge der Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf Kohlendioxyd und Kaliumhydroxydlösung (resp. Kaliumbicarbonat) bilden sich bei Gegenwart von Ferroverbindungen Hexosen, deren Phenylosazone einen Schmelzpunkt von 204—205° zeigen.

4. Aus Kohlendioxyd oder Kaliumbicarbonat und Wasserstoffsuperoxyd entsteht unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen kein Formaldehyd.

5. Was den chemischen Charakter des bei der Photosynthese aus Kaliumbicarbonat entstandenen Kohlenhydrates anbelangt, so ist zu erwähnen, daß dies ein Gemisch von Hexosen, bzw. Aldosen und Ketosen, oder deren Osone bildet. Die untersuchte Lösung dieser Hexosen zeigte sich optisch inaktiv. Unserem künstlichen Zucker fehlen überhaupt alle asymmetrischen Bedingungen.

6. Aus unseren biologischen Versuchen geht hervor, daß der von uns synthetisch gewonnene Zucker nicht abbaufähig ist durch Saccharomyces cerevisiae, sowie durch Bakterien, welche elementaren Stickstoff assimilieren, wie Azotobacter chroococcum und durch die Bakterien, die eine Nitratgärung verursachen, wie Bact. centropunctatum, Bac. pyocyaneus und Bac. fluorescens liquefaciens.

7. Nachdem bei der Oxydation des Formaldehyds als Zwischenprodukt Ameisensäure entsteht, welche sich erst stufenweise in Kohlendioxyd und Wasser verwandelt, können wir annehmen, daß das eine Umkehrung der Reaktion der photochemischen Assimilation der Kohlensäure ist, die sich in der chlorophyllhaltigen Zelle abspielt.

8. Den Mechanismus der photochemischen Reaktion können wir uns so vorstellen, daß durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen auf das Kaliumbicarbonat zuerst die Ameisensäure, der Sauerstoff und das Kaliumcarbonat entstehen. Die in Entstehung begriffene Ameisensäure wird durch den weiteren Einfluß der ultravioletten Strahlen in Formaldehyd und Sauerstoff zersetzt und der Formaldehyd bei Gegenwart von Kali zu Hexosen kondensiert. Das frei entstandene Kaliumcarbonat wird beim Hinzutreten von Kohlensäure und Wasser wieder in Kaliumbicarbonat umgewandelt und dieser Prozeß setzt sich so weiter fort. Die photosynthetische Assimilation der Kohlensäure, wo das Licht als Energiequelle Verwendung findet, können wir uns in nachstehenden Gleichungen vorstellen:

$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + \text{Licht} = K_2CO_3 + HCOOH + O$$
$$(\text{Licht}) + HCOOH = HCOH + O$$
$$n(HCOH) = (HCOH)n$$
$$K_2CO_3 + CO_2 + H_2O = 2\,KHCO_3$$
$$2\,KHCO_3 + \text{Licht usw.}$$

Der gebildete Formaldehyd kondensiert sich bei Gegenwart von Kali zu Kohlenhydraten.

9. Die Zuckersynthese kann auch durch die Einwirkung des nascierenden Wasserstoffs, also durch die dabei hervorgerufene Reduktion des in Entstehung begriffenen Kaliumbicarbonats vor sich gehen. Wir wissen ja, daß bei den autotrophen Pflanzen der 1. Prozeß der Kohlendioxydreduktion Aufbau und Assimilation, der 2. gerade im Gegenteil Abbau, Dissimilation ist, und es ist anzunehmen, daß diese beiden Prozesse in kausalem Konnex stehen.

Der isoelektrische Punkt der Gelatine.

Von

L. Michaelis und W. Grineff.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1912.)

In Fortsetzung der früheren Arbeiten wurde mit Hilfe der elektrischen Überführung der isoelektrische Punkt der Gelatine bestimmt. Die Methode war genau die gleiche wie früher, insbesondere in der Arbeit: diese Zeitschr. **33**, 456.

Die käufliche Gelatine enthält so wenig Elektrolyte, daß für unsere Methode, wo wir ja doch stets ein Elektrolytgemisch als Regulator hinzufügen, die Entfernung der letzten Spuren dieser Verunreinigung ganz überflüssig war. Das Resultat der Versuche ist in der folgenden Tabelle (S. 374) zusammengestellt.

Die Wanderung ist also bei stark saurer Reaktion kathodisch, bei schwach saurer (wie bei alkalischer Reaktion) anodisch und ist zwischen einer [H˙] von $1,6 \cdot 10^{-5}$ bis einer solchen von $3,5 \cdot 10^{-5}$ nicht bestimmbar. Nehmen wir die Mitte dieses Gebietes als den wahrscheinlichsten Wert für den isoelektrischen Punkt, so ergibt sich für diesen $2,5 \cdot 10^{-5}$. Dieser Wert stimmt mit dem von Chiari[1]) bestimmten Quellungsminimum der Gelatine ([H˙] $= 2 \cdot 10^{-5}$), das dieser Autor schon als den isoelektrischen Punkt der Gelatine gedeutet hatte, befriedigend überein.

---

[1]) Diese Zeitschr. **33**, 167.

Tabelle.

In jedem Versuche enthält die Mittelflüssigkeit 2 ccm einer 10%igen Gelatinelösung, 6 ccm n/10-Natriumacetatlösung, n ccm n/10-Essigsäure und destilliertes Wasser bis zum Gesamtvolumen 40 ccm. Stromdurchgang 2 Stunden (110 Volt).

Versuchs-Nr.	n	[H˙] berechnet	[H˙] nach Beendigung des Stromdurchgangs mit Gaskette gemessen in der Mittelflüssigkeit	Wanderung	
1	1	$0{,}35 \cdot 10^{-5}$	$0{,}47 \cdot 10^{-5}$	anod.	anodisches Gebiet
2	2	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$ (2–3)	$0{,}80 \cdot 10^{-5}$	anod.	
3	2		$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	anod.	
4	3	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$ (4–5)	$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	anod.	
5	3		$1{,}0 \cdot 10^{-5}$	anod.	
6	4	$1{,}4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	anod.	
7	4,5	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$ (7–8)	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	isoelektrisches Gebiet
8	4,5		$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	
9	5	$1{,}75 \cdot 10^{-5}$	$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	anod.	
10	6	$2{,}1 \cdot 10^{-5}$ (10–15)	$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	anod; Spur kathod.	
11	6		—	anod. und kathod.	
12	6		$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	
13	6		$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	
14	6		$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	steht still	
15	6		$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	steht still	
16	9	$3{,}1 \cdot 10^{-5}$ (16–18)	—	kathod.	
17	9		$2{,}9 \cdot 10^{-5}$	Spur anod.	
18	9		$2{,}9 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	
19	10	$3{,}5 \cdot 10^{-5}$ (19–21)	$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	Spur kathod.	
20	10		$3{,}4 \cdot 10^{-5}$	steht still	
21	10		$3{,}5 \cdot 10^{-5}$	Spur anod.	
22	12	$4{,}2 \cdot 10^{-5}$ (22–26)	$3{,}9 \cdot 10^{-5}$	kathod.	kathodisches Gebiet
23	12		$4{,}1 \cdot 10^{-5}$	kathod.	
24	12		$4{,}1 \cdot 10^{-5}$	kathod.	
25	12		—	kathod.	
26	12		$4{,}5 \cdot 10^{-5}$	kathod.	
27	24	$8{,}4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}7 \cdot 10^{-5}$	kathod.	
28	60*)	$21 \cdot 10^{-5}$ (28–29)	$23 \cdot 10^{-5}$	kathod.	
29	60*)		$21 \cdot 10^{-5}$	kathod.	

*) D. h. 6 ccm n/1-Essigsäure.

Anmerkung zu dieser Tabelle. Die Bezeichnungen „Spur kathod.“, „Spur anod.“ bedeuten, daß eine ganz minimale Gelatinereaktion in der betreffenden Seitenflüssigkeit erhalten wurde. Diese ist nicht im Sinne einer elektrischen Kataphorese zu deuten, sondern kann ebensogut durch minimale Konvektionsfehler bei elektrischem Stillstand erklärt werden. Der Nachweis der Gelatine erfolgte anfänglich mit Sulfosalicylsäure, wie l. c., späterhin mit einer 10%igen Tanninlösung.

Über die Phosphatide in den Organen der mit getöteten Tuberkelbacillen geimpften Kaninchen.

Von

Otolski und Biernacki (Warschau).

(Eingegangen am 26. April 1912.)

Über den Einfluß von verschiedenen Giften auf die anorganischen Bestandteile der Organe, sowie auf die organischen phosphorhaltigen Substanzen derselben finden wir in der Literatur sehr interessante Mitteilungen.

Zahlreiche Beobachtungen über die Bedeutung der Lipoide resp. der Phosphatide für das Leben der tierischen und pflanzlichen Zelle beweisen, daß diese Stoffe sich mehr oder weniger an verschiedenen Vorgängen in der Zelle unter diesem oder jenem Einfluß beteiligen.

Über den Einfluß des Hungers, der Stoffwechselstörungen und Vergiftungen sowie Intoxikationen auf den Gehalt an Phosphatiden berichten verschiedene Forscher.

Wir stellten uns die Aufgabe, die phosphorhaltigen Substanzen (Phosphatide) in den Organen der mit getöteten Tuberkelbacillen geimpften Kaninchen zu bestimmen.

Herrn Dr. med. Karwacki, der uns freundlichst sieben mit getöteten Tuberkelbacillen geimpfte Kaninchen zur Verfügung stellte, sprechen wir an dieser Stelle unseren besten Dank aus.

Die zur Impfung gewählten Tuberkelbacillen stammten von verschiedenen Kulturen. Zur Kontrolle diente ein normales Kaninchen, dessen Organe in derselben Weise untersucht wurden.

Folgende Organe gelangten zur Untersuchung: Niere, Milz, Herz, Lunge und Leber, die alle sorgfältig isoliert, zerschnitten

und dann getrocknet wurden. In den hier erwähnten Organen wurde folgendes bestimmt:

1. Das Gewicht der frischen Organe, das Gewicht der trockenen Organe, der Wassergehalt.

2. Die Gesamtmenge des Phosphors.

3. Die Menge des organischen Phosphors (Phosphatidenphosphor).

4. Einige Phosphatide der Leber.

5. Der Phosphorgehalt in dem aus der Leber erhaltenen Lecithan.

Die Resultate unserer Untersuchungen sind in Tabellen dargestellt; hier geben wir alles Nähere über ein jedes einzelne Versuchskaninchen.

Kaninchen Nr. 1.

Gewicht 1420 g. Am 18. II. 1910 wurde 1 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen subcutan injiziert. Am 24. II., Gewicht 1480 g, wurden 1,5 ccm derselben getöteten Kulturemulsion subcutan injiziert. Am 3. III., also nach 13 Tagen, wog das Kaninchen 1620 g und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die zur Injektion dienende Emulsion in einer Verdünnung von 1:10.

Kaninchen Nr. 2.

Gewicht 1340 g. Am 17. II. 1910 wurde 1 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen subcutan injiziert. Den Tuberkelbacillen war die Säurefestigkeit entzogen. Am 24. II., Gewicht 1360 g, wurden 1,5 ccm derselben getöteten Tuberkelbacillenemulsion subcutan injiziert. Am 9. III., also nach 20 Tagen, wog das Kaninchen 1430 g und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die zur Injektion dienende Emulsion in einer Verdünnung von 1:250.

Kaninchen Nr. 3.

Gewicht 2140 g. Am 19. II. 1910 wurde 1 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen, stammend aus Sputum, denen die Säurefestigkeit entzogen war, subcutan injiziert. Am 25. II., Gewicht 2240 g, wurden 1,5 ccm derselben getöteten Kulturemulsion subcutan injiziert. Am 10. III., also nach 20 Tagen, wog das Kaninchen 2090 g (Abnahme des Gewichts um 50 g) und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die zur Injektion dienende Emulsion in einer Verdünnung von 1:100.

Kaninchen Nr. 4.

Gewicht 1190 g. Am 19. II. 1910 wurde 1 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen, stammend aus Sputum, denen die Säurefestig

keit entzogen war, subcutan injiziert. Am 25. II., Gewicht 1190 g, wurden 1,5 ccm derselben getöteten Tuberkelbacillenemulsion subcutan injiziert. Am 10. III., also nach 18 Tagen, wog das Kaninchen 1080 g (Abnahme des Gewichts um 110 g) und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die zur Injektion dienende Emulsion in einer Verdünnung von 1:500.

Kaninchen Nr. 5.

Gewicht 3130 g. Am 19. II. 1910 wurde 1 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen, stammend aus Sputum, denen die Säurefestigkeit entzogen war, subcuten injiziert. Am 25. II., Gewicht 3090 g (Abnahme des Gewichts), wurden 1,5 ccm derselben Tuberkelemulsion subcutan injiziert. Am 12. III., also nach 20 Tagen, wog das Kaninchen 3120 g und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die dem Tier injizierte Kultur in einer Verdünnung von 1:100.

Kaninchen Nr. 6.

Gewicht 1100 g. Am 19. II. 1910 wurden 0,75 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen subcutan injiziert. Am 25. II., Gewicht 1090 g (Abnahme) wurde 1 ccm derselben Tuberkelemulsion subcutan injiziert. Am 10. III., also nach 19 Tagen, wog das Kaninchen 1220 g und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die gleiche Kultur, die infiziert wurde, in einer Verdünnung von 1:25.

Kaninchen Nr. 7.

Gewicht 1750 g. Am 19. II. 1910 wurden 0,75 ccm einer Emulsion von getöteten Tuberkelbacillen subcutan injiziert. Am 26. II., Gewicht 1750 g, wurde 1 ccm derselben Tuberkelemulsion subcutan injiziert. Am 10. III., also nach 18 Tagen, wog das Kaninchen 1750 g und wurde durch Blutentnahme getötet. Das Serum agglutinierte die zur Injektion angewandte Emulsion in einer Verdünnung von 1:5.

Kaninchen Nr. 8.

Normal, mittlerer Größe, wurde durch Schlag auf den Kopf getötet.

Bestimmung des Wassergehalts.

Die Temperatur im Trockenschrank wurde allmählich bis 100° gesteigert. Das Gewicht und der Wassergehalt der einzelnen Organe sind in Tabelle I dargestellt.

Wir sehen in dieser Tabelle den Wassergehalt der Organe schwanken (68,31% bis 81,66%). Die Milz des Kaninchens Nr. 7, die makroskopisch nicht normal war und auch in getrocknetem Zustande eine ganz besondere Farbe (gelblich-weiß) hatte, zeigte einen Wassergehalt von nur 34,52%.

Tabelle I.

Gewicht der Organe in Gramm und Wassergehalt in %.

Organ	Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Niere	Frische Substanz .	10,6190	10,2740	14,8530	11,5055	13,8312	6,6330	9,2813	13,0900
	Trockene „ .	3,3140	2,6740	3,1585	2,1095	3,2478	1,5390	2,4638	2,9480
	Wassergehalt . .	68,31	73,97	78,73	81,66	78,83	76,79	73,45	77,47
Milz	Frische Substanz .	1,3305	0,9685	2,1430	0,4195	1,5293	0,3960	1,5242	1,2600
	Trockene „ .	0,4165	0,3360	0,4890	0,1015	0,3510	0,1020	0,9980	0,2770
	Wassergehalt . .	68,69	71,50	77,64	71,25	77,04	74,24	34,52	78,01
Herz	Frische Substanz .	5,1545	4,2545	5,0440	4,1696	8,5733	2,9848	3,8308	4,7550
	Trockene „ .	1,2795	0,8993	1,1095	0,8848	2,0285	0,6609	0,9838	1,0120
	Wassergehalt . .	75,17	78,83	78,00	78,77	76,33	77,43	74,84	78,38
Lunge	Frische Substanz .	6,5495	4,8025	10,9110	5,7021	8,8190	4,4968	4,5082	7,3440
	Trockene „ .	1,6668	0,9350	2,6248	1,2124	2,1070	1,0408	1,3917	1,4140
	Wassergehalt . .	76,07	78,03	75,94	78,73	76,10	76,85	69,12	80,74
Leber	Frische Substanz .	92,1744	67,8091	43,6505	29,1072	55,0852	46,9950	59,3657	101,8970
	Trockene „ .	23,5595	15,6955	9,3975	6,8030	14,0732	11,5297	14,5704	25,8835
	Wassergehalt . .	74,44	74,53	78,47	76,62	74,44	75,46	75,34	74,59

Bestimmung der Gesamtmenge von P_2O_5.

Die in allen Organen des Kaninchens Nr. 1 und in der Niere des Kaninchens Nr. 2 nach Woy, in allen übrigen Fällen nach Neumann bestimmte Gesamtmenge von P_2O_5 ist in Tabelle II dargestellt.

Tabelle II.

Die Gesamtmenge des P_2O_5 in %, mit Berücksichtigung der trockenen und frischen Organe.

Organ	Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Niere	Trockene Substanz	2,00	2,09	3,14	2,82	3,15	3,22	2,48	5,12
	Frische „	0,63	0,54	0,67	0,52	0,67	0,75	0,66	1,15
Milz	Trockene Substanz	2,31	1,63	2,37	4,61	2,70	8,91	0,79	—
	Frische „	0,72	0,46	0,53	1,33	0,42	2,30	0,52	—
Herz	Trockene Substanz	1,23	2,38	2,74	1,99	1,70	3,13	1,79	4,01
	Frische „	0,31	0,50	0,60	0,42	0,40	0,71	0,45	0,87
Lunge	Trockene Substanz	1,25	1,19	1,53	1,81	2,04	3,19	3,08	5,24
	Frische „	0,47	0,26	0,37	0,38	0,49	0,74	0,95	1,01
Leber	Trockene Substanz	2,54	3,11	1,87	1,45	0,55	2,96	2,87	2,84
	Frische „	0,65	0,79	0,40	0,34	0,14	0,73	0,71	0,72

In der nach Tabelle I kurz geschilderten Milz Nr. 7 sehen wir die Gesamtmenge von P_2O_5 stark herabgesetzt. Die

Phosphorbestimmung in der Milz Nr. 8 verunglückte leider. Wir finden in dieser Tabelle die Gesamtmenge des Phosphors (mit Ausnahme der Leber) in allen Organen der mit getöteten Tuberkelbacillen geimpften Kaninchen bedeutend herabgesetzt. Neben verhältnismäßig geringen Differenzen in der Gesamtmenge des Phosphors in ein und denselben Organen der Versuchskaninchen, wie in den Nieren (2,00 % bis 3,22 %) im Vergleich zum Phosphorgehalt der normalen Niere (5,12 %), finden wir auch sehr bedeutende Differenzen (trockene Milz 0,79 % und 8,91 %). Die Zahl 0,79 % gehört allerdings der schon kurz nach Tabelle I geschilderten Milz Nr. 7. Das Herz und die Lungen zeigen auch nicht geringe Schwankungen. Die Gesamtmenge des Phorphors finden wir nur in einer Leber (Nr. 5) auffallend gering, in allen anderen ziemlich nahe dem Gehalt der normalen.

Bestimmung des Phosphatidphosphors.

Die Menge des in Phosphatiden resp. Lipoiden enthaltenen P_2O_5, das heißt der in Alkohol-Äther löslichen organischen Phosphorverbindungen, wurde folgenderweise bestimmt. Eine bestimmte Menge der trockenen Organe wurde in einem Kolben mit der 20fachen Menge Alkohol (95°) übergossen und 1 Stunde auf dem Wasserbade am Rückflußkühler gekocht. Nach Erkalten des Alkoholextrakts wird derselbe filtriert, der Filterrückstand mit Alkohol (95°) ausgewaschen, das Filter mit dem Rückstand in den ersten Kolben übertragen, mit der 20fachen Menge absoluten Äthers übergossen und wieder $^1/_2$ Stunde auf dem Wasserbade am Rückflußkühler erwärmt. Nach Erkalten wird der Ätherextrakt direkt in den Kolben, welcher den Alkoholextrakt enthält, filtriert, der Filterrückstand sorgfältig nachgewaschen und dann der Äther-Alkohol abdestilliert. In dem Rückstand, welcher das charakteristische Aussehen der Lipoide hat, wurde die Menge von P_2O_5 nach Neumann bestimmt. Die hier erhaltenen Resultate sind in der folgenden Tabelle III dargestellt.

In der Milz konnten diese Phosphorbestimmungen nicht vorgenommen werden, weil das Gewicht derselben zu gering war. Ebenso mußten wegen Mangel an Versuchsmaterial alle Stickstoffbestimmungen in den Phosphatiden fortbleiben, was

uns sehr leid tut, denn im Interesse einer näheren Kenntnis der Phosphatide ist die Stickstoffbestimmung durchaus notwendig. Was die aus dieser Tabelle hervorgehenden Resultate anbetrifft, so könnten wir dasselbe sagen, was aus Tabelle II hervorgeht, d. h. es findet auch hier mit Ausnahme der Leber eine Abnahme des Phosphors (Phosphatidphosphor) in den Organen der Kaninchen unter dem Einfluß der getöteten Tuberkelbacillen statt. In den Nieren und Lungen der Versuchskaninchen finden wir eine bedeutende Abnahme des Gesamt- und Phosphatidphosphors. Die Leber dagegen bildet eine Ausnahme, d. h. es findet hier keine Phosphorabnahme statt; in einem Falle (Tabelle III) finden wir sogar eine Zunahme des Phosphatidphosphors.

Tabelle III.

Die in Phosphatiden enthaltene Menge von P_2O_5 in %, mit Berücksichtigung der trockenen und frischen Organe.

Organ	Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Niere	Trockene Substanz	0,81	0,44	0,59	0,69	0,59	0,80	0,62	0,97
	Frische "	0,26	0,11	0,13	0,13	0,12	0,19	0,16	0,22
Milz	Trockene Substanz	—	—	—	—	—	—	—	4,03
	Frische "	—	—	—	—	—	—	—	0,87
Herz	Trockene Substanz	1,62	0,83	0,83	0,57	0,54	1,04	0,86	1,50
	Frische "	0,40	0,18	0,19	0,12	0,13	0,22	0,22	0,32
Lunge	Trockene Substanz	0,88	0,63	0,71	1,04	0,77	0,71	0,93	1,69
	Frische "	0,21	0,14	0,17	0,22	0,18	0,16	0,29	0,33
Leber	Trockene Substanz	0,69	0,25	0,57	1,11	0,64	0,35	0,70	0,56
	Frische "	0,18	0,06	0,12	0,26	0,16	0,09	0,17	0,14

Die Leberphosphatide und deren Phosphorgehalt.

Eine etwas ausführlichere Untersuchung der einzelnen Phosphatide konnte nur an der Leber unternommen werden, da alle anderen Organe nicht genügend Material boten.

Die Bestimmung der einzelnen Leberphosphatide geschah folgenderweise:

Eine bestimmte Menge der trockenen Leber wurde mit der 20fachen Menge Alkohol (95°) im Laufe einer Stunde auf dem Wasserbade am Rückflußkühler gekocht, nach 24 Stunden filtriert und der Rückstand mit Alkohol (95°) sorgfältig nach-

gewaschen. Das vereinigte Filtrat wurde mit dem $2^1/_2$fachen Volumen Äther versetzt und auf 48 Stunden kühl gestellt. Im Laufe dieser Zeit hatte die anfangs trübe Flüssigkeit sich geklärt und ein deutlicher Niederschlag an den Wänden und am Boden des Glases sich gebildet, welcher von der überstehenden Flüssigkeit vorsichtig getrennt und durch Luftzug getrocknet wurde. Wie es sich später erwies, gehörte dieser Körper zur Gruppe der Jekorine. In der Leber ist nicht ein Jekorin, sondern mehrere nachgewiesen[1]) und deshalb wollen auch wir unseren Niederschlag aus dem Alkohol-Ätherfiltrat als „Jekorine I-Fraktion" bezeichnen. Leider war dieser Niederschlag viel zu gering, um irgend welche quantitativen Bestimmungen zu unternehmen, und deshalb waren wir gezwungen, uns mit folgenden qualitativen zu begnügen.

Der Niederschlag „Jekorine I-Fraktion" löste sich vollständig in Wasser, reduzierte Fehlingsche Kupfersulfatlösung, gab mit einer Kupferacetatlösung einen flockigen Niederschlag, wurde durch Silbernitrat gefällt und färbte sich bei Erhitzen mit Ammoniak portweinrot. Außerdem wurde die Gegenwart von Phosphor, Schwefel und Natrium qualitativ nachgewiesen. Da es sich hier darum handelte, nicht die Anwesenheit eines neuen Körpers nachzuweisen, sondern sich zu überzeugen, daß unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen kein Verlust von Jekorinen stattfindet, so genügen diese Reaktionen zur Feststellung der Jekorinanwesenheit.

Um die in der Alkohol-Ätherlösung nach Entfernung der „Jekorine I-Fraktion" gebliebenen Phosphatide zu isolieren, wurde diese Lösung durch Destillation vom Alkohol-Äther befreit und der Rest im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Der vollständig trockene, gewogene Rest wurde dann mit Äther vollständig erschöpft, die Ätherlösung (100 ccm) filtriert und hier eine phosphorhaltige, lecithinähnliche Verbindung nachgewiesen. Im Gegensatz zu dem aus Eigelb erhaltenen reinen Lecithin wollen wir unseren Körper mit Lecithan bezeichnen. Der hier in Äther unlösliche Anteil von sirupartiger Konsistenz wurde mit Wasser vollständig erschöpft, filtriert und die Lösung mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt („Jekorine II-Fraktion").

---

[1]) Baskoff, Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 426, 1909.

Der in Äther und Wasser unlösliche Rest wurde wieder in derselben Weise getrocknet, gewogen und mit Berücksichtigung der trockenen und frischen Organe in Tabelle IV in °/₀ angeführt. Um nun die Menge des in der schon erwähnten Ätherlösung (100 ccm) vorhandenen Lecithans zu bestimmen, wurde diese Lösung mit 400 ccm Aceton versetzt, auf 24 Stunden kühl gestellt, der deutliche Niederschlag abfiltriert, mit 100 ccm Aceton nachgewaschen, durch Luftzug getrocknet, wieder in Äther aufgenommen, der Äther verdunstet, der Rest im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet, dann gewogen und mit Berücksichtigung der trockenen und frischen Organe in Tabelle IV in °/₀ angeführt.

Über die Farbe des ersten Alkoholauszuges und den Lecithanniederschlag sowie einige andere Eigenschaften gibt folgende Tabelle A eine Übersicht.

Tabelle A.

Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Farbe des ersten Alkoholauszuges der Leber	hellgelb	gelb	tiefer gefärbt	weniger tief gefärbt	tief gefärbt	tiefer gefärbt	gelb	tiefer gefärbt
Acetonfällung der Ätherlösung (Lecithan)	deutlicher Niederschlag am Boden u. Wänden	Trübung, kein deutlicher Niederschlag	Trübung, kein deutlicher Niederschlag	deutlicher Niederschlag	Trübung, kein deutlicher Niederschlag	deutlicher Niederschlag	deutlicher Niederschlag	sehr reichlicher, deutlicher Niederschlag

Die Lecithinniederschläge Nr. 1 bis Nr. 7 waren alle bedeutend geringer als die aus der Leber des normalen Kaninchens (Nr. 8).

Bestimmung der „Jekorin II-Fraktion".

Die Menge der „Jekorin II-Fraktion" wurde quantitativ bestimmt, indem die schon früher erwähnte Lösung (100 ccm) der „Jekorin II-Fraktion" in zwei Teile geteilt wurde (à 50 ccm), die eine Hälfte eingedampft, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und gewogen. Dieser Trockenrückstand war porös, sehr hygroskopisch und löste sich schwach opalisierend in Wasser (die Lösung der Leber Nr. 2 war vollständig klar). Zur Feststellung des Jekorins wurden alle bei „Jekorin I-Fraktion"

beschriebenen, auch hier positiv ausgefallenen Reaktionen benutzt. Die „Jekorin II-Fraktion" reduzierten alle mit Ausnahme des Präparates der Leber Nr. 3, auf welches sogar die Inversion (mit Säure) keinen Einfluß hatte, die Kupfersulfatlösung. Einen Überblick über den Trockenrückstand des Alkohol-Ätherauszuges, über das Lecithan und die „Jekorine II-Fraktion" gibt die Tabelle IV.

Tabelle IV.

Der Trockenrückstand, das Lecithan und die „Jekorin II-Fraktion" aus der Leber in %, mit Berücksichtigung der frischen und trockenen Substanz.

	Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Trockener Rest des Alkohol-Ätherauszuges	Trockene Substanz	21,04	13,19	28,59	32,45	11,47	14,70	22,15	15,58
	Frische "	5,38	3,35	5,96	7,59	2,93	3,61	5,46	3,96
Lecithan (Lecithin)	Trockene Substanz	0,23	0,27	verunglückt	3,40	0,54	1,14	0,56	4,04
	Frische "	0,06	0,07	do.	0,79	0,14	0,28	0,12	1,03
Jekorin (II. Fraktion)	Trockene Substanz	1,70	2,96	6,96	5,26	1,49	3,24	5,02	1,88
	Frische "	0,43	0,75	1,52	1,23	0,38	0,80	1,04	0,48

Trotzdem alle Lebern ganz identisch verarbeitet wurden, sehen wir hier doch bedeutende Differenzen in der Menge des Trockenrückstandes aus dem Alkohol-Ätherauszug; bei einem Minimum von 11,47% und einem Maximum von 32,45% finden wir bei der normalen Leber die Zahl 15,58%. Was den Gehalt an Lecithan anbetrifft, so geht aus Tabelle IV deutlich hervor, daß unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen eine Abnahme des Lecithins in der Leber stattfindet; bei einem Minimum von 0,23% und einem Maximum von 3,40% finden wir für die normale Leber die Zahl 4,04%. Mit Ausnahme der Kaninchen Nr. 1 und Nr. 5 sehen wir die Menge der „Jekorin II-Fraktion" in allen Fällen bedeutend gestiegen; es findet also hier unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen keine Abnahme, die wir bei Lecithan konstatierten, sondern eine Zunahme statt.

Die aus dem Trockenrückstand des Alkohol-Ätherauszuges in % berechneten und in Tabelle V dargestellten Zahlen illustrieren den Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen auf den Gehalt von Lecithan und „Jekorin II-Fraktion" noch viel auffallender.

Tabelle V.

Die Berechnung des Lecithans und der „Jekorin II-Fraktion“ auf den Trockenrückstand des Alkohol-Ätherauszuges der Leber in %.

Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
Lecithan (Lecithin) . .	1,11	2,05	verunglückt	10,49	4,61	7,76	2,49	25,95
	Im Durchschnitt: 4,75 %							
Jekorin (II. Fraktion) .	8,08	22,47	24,38	16,22	13,83	22,86	22,66	12,09
	Im Durchschnitt: 18,65 %							

Wir haben hier für Lecithan ein Minimum von 1,11 %, ein Maximum von 10,49 % mit einem Durchschnitt von 4,75 % zu 25,95 %, welche der Lecithanmenge in der normalen Leber entsprechen. Die Zahlen für „Jekorin II-Fraktion“ sind: Minimum 8,08 %, Maximum 24,38 %, Durchschnitt 18,65 % zu 12,09 % (normale Leber).

Unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen findet also eine Abnahme des Lecithans und eine Zunahme der „Jekorin II-Fraktion“ statt, d. h. im Vergleich zur normalen Leber ist das Verhältnis hier ein umgekehrtes.

Tabelle VI.

Der Gehalt des P_2O_5 und P in dem Lecithan der Leber in %.

Kaninchen	Nr. 1	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6	Nr. 7	Nr. 8
P_2O_5	22,21	14,72	verunglückt	9,07	16,38	11,82	14,26	7,85
	Im Durchschnitt: 14,79 %.							
P	9,68	6,42	verunglückt	3,96	7,14	5,16	6,22	3,43
	Im Durchschnitt: 6,43 %.							

Wir erwähnten im Anfang dieser Mitteilung schon, daß die Stickstoffbestimmungen wegen Mangel an Versuchsmaterial nicht gemacht werden konnten und daß wir uns mit der Phosphorbestimmung nach Neumann begnügen mußten. Der Phosphorgehalt des Lecithans aus der Leber des normalen Kaninchens näherte sich dem Phosphorgehalt des Hühnereilecithins, während das Lecithan der Versuchskaninchen einen

bedeutend höheren Phosphorgehalt aufwies. Es könnte sich hier vielleicht um eine Metamorphose des Lecithans unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen handeln. Über den erwähnten Phosphorgehalt gibt die vorhergehende Tabelle VI einen Überblick.

Zusammenfassung.

Das uns zur Verfügung gestellte Material und die von uns erzielten Resultate sind natürlich nicht genügend, um irgendeinen Satz definitiv aufzustellen, aber wir sehen doch, daß unter dem Einfluß von getöteten Tuberkelbacillen eine allgemeine Phosphorabnahme stattfindet, daß in der Leber neben der Abnahme des Lecithans eine gleichzeitige Zunahme der Jekorine vor sich geht und daß der Phosphorgehalt des Lecithans der Leber bedeutend steigt. Es könnte hier eine Lecithanmetamorphose vorliegen resp. ein Übergang des Lecithans in andere Verbindungen, ohne die allgemeinen und charakteristischen Eigenschaften der Lipoide zu verlieren.

Wir hoffen in Zukunft zu diesem höchst interessanten Thema zurückzukommen.

Über Zuckerabbau und Zuckeraufbau im tierischen Organismus.

Von

J. Parnas und Julius Baer[1]).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Straßburg.)

(Eingegangen am 29. April 1912.)

Betrachtet man die Produkte, welche nach Spaltung des Hexosemoleküls in Triosen durch Umlagerung entstehen können, so erscheint die Milchsäure als erstes Produkt, welches keine labilen Carbonylgruppen mehr enthält und bei saurer wie alkalischer Reaktion beständig ist.

Es ist bei diesen Eigenschaften der Milchsäure verständlich, daß sie fast überall auftritt, wo Kohlehydrate durch Organismen zersetzt werden: „kaum eine der bekannten Bakteriengruppen entbehrt völlig der Fähigkeit, Milchsäure zu erzeugen; nur scheinbar fehlt sie vielleicht den Strahlenpilzen und echten Pilzen, sowie den Hefen“[2]); sie tritt bei letzteren mit aller Wahrscheinlichkeit als Zwischenprodukt auf.

Im Organismus der höheren Tiere findet man d-Milchsäure in allen Geweben, besonders im Muskel; ihre Beziehungen zum Abbau der Kohlehydrate und zur Muskelarbeit sind sehr oft erörtert worden[3]).

---

[1]) Die Ausführung der Versuche lag aus äußeren Gründen im wesentlichen in den Händen des einen von uns (P.).

[2]) Kruse, Allg. Biologie **1910**, 290.

[3]) Astaschewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**; Araki, ibid. **15**, **16**, **19**; Spiro, ibid. **2**; Zillessen, ibid. **15**; Warren, Arch. f. d. ges. Physiol. **31**, 391; Werther, ibid. **64**; v. Frey, Arch. f. Anat. u. Physiol. **1885**, 533; Heffter, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 225; ferner Zusammenfassung v. Fürth: Ergebnisse der Physiologie **3** I., 589 ff.

Zuletzt wurde die Entstehung von Milchsäure aus Zucker bei Muskelarbeit durch Johannes Müller[1]) am isolierten Katzenherzen, durch Fletcher und Hopkins[2]) am Skelettmuskel exakt bewiesen.

Nach diesen Versuchen wird die Milchsäure als Hauptprodukt des intermediären Zuckerabbaues im lebenden tierischen Organismus angesehen.

Man hat die weiteren Umwandlungen der Milchsäure im Organismus nach zwei Richtungen hin gesondert betrachtet, der Zerstörung der Säure und der Verwertung der Säure zu Synthesen.

Über die ersteren Untersuchungen läßt sich nicht viel sagen. Bach und Battelli stellen folgendes Schema auf[3]):

Aus Glucose entsteht Milchsäure, aus Milchsäure Alkohol und Kohlensäure, aus nascierendem Alkohol durch Oxydation Essigsäure, aus dieser Methan und Kohlensäure, aus nascierendem Methan wird Ameisensäure, aus dieser Wasserstoff und Kohlensäure, aus nascierendem Wasserstoff Wasser.

Slosse[4]) schließt aus sehr geringen Vermehrungen von Ameisensäure, Essigsäure und Kohlenoxyd im Blute während „aseptischer Autolyse", daß Milchsäure in diese Körper zerfällt.

Embden und Salomon führten den Nachweis, daß Natriumlactat die Zuckerausscheidung pankreasdiabetischer Hunde erhöht[5]).

Die Tatsache, daß aus Milchsäure Zucker entstehen kann, wurde indessen noch nicht in Beziehungen zum Glucoseabbau gebracht.

Dies hat folgenden Grund: Man nahm an, daß die Bildung von Glucose aus Milchsäure eine Umkehrung der Milchsäurebildung aus Glucose darstellt, daß aus 2 Molekülen Milchsäure

---

1) Festschrift für Rosenthal, 1906, 350, Centralbl. f. Physiol. 21, 831.

2) Journ. of Physiol. 25, 247, 1907.

3) Compt. rend. 136, 1351.

4) Arch. intern. de physiol. 11, 153.

5) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 63.

wieder 1 Molekül Glucose entsteht[1]). Vielleicht war für diese Auffassung maßgebend, daß Mandel und Lusk am Phlorizinhund auf Verabreichung von d-Milchsäure eine Zunahme der Glucoseausscheidung zu beobachten glaubten, welche dieser Gleichung entsprach[2]).

Lusk ist nun der Meinung, daß Milchsäure einerseits zu Glucose „synthetisiert" wird, andererseits in Acetaldehyd und Ameisensäure übergeht. Die Ameisensäure soll dann „eine Energiequelle für die Zellen darstellen", der Acetaldehyd zur Bildung höherer Fettsäuren dienen[3]).

Porges[4]) diskutiert die Frage einer Umlagerung von Milchsäure und sogar von Fettsäuren in isomere Oxyaldehyde und Kohlenhydrate. „Bei der großen Leichtigkeit, mit welcher Zucker in gewisse Fettsäuren zerfallen kann, hat der Gedanke des umgekehrten Vorganges, der Synthese aus Fettsäuren, nichts Gezwungenes." „Man müßte zunächst eine Verschiebung des Sauerstoffs zwischen den einzelnen Kohlenstoffen annehmen, aus Essigsäure würde dabei Glykolaldehyd entstehen[5])."

Wir halten die Umkehrung der Fettsäurebildung aus Zucker aus folgenden Erwägungen nicht für möglich.

Der Zerfall von Zucker in Triosen mag wohl zu einem Gleichgewicht führen und umkehrbar sein; vielleicht gilt dies

---

[1]) v. Noorden und Embden, Centralblatt für die Physiologie des Stoffwechsels 1906. N. F. 1. S. 2.

[2]) Amer. Journ. of Physiol. 16, 143ff. Wir halten die Berechnungen von Mandel und Lusk nicht für stichhaltig; sie setzen voraus, daß Stickstoffausscheidung durch Eingabe organischer Salze nicht beeinflußt wird. M. und L. haben in ihren schönen Versuchen eine tatsächliche Erhöhung der Glucoseausscheidung nach Lactatgaben beobachtet; sie beträgt in Versuch 7 1,5 g D. nach 4,26 g d-Milchsäure, in Versuch 8 nach der gleichen Menge 2,1 g. Die Versuche der Tabelle IX weichen von diesen Versuchen auffallend ab: im ersten wird nach 3,4 g Milchsäure 3,1 g Zucker mehr ausgeschieden, im zweiten bleibt dagegen eine Erhöhung der Ausscheidung auf 4,26 g d-Milchsäure aus. Beide Versuche werden an demselben Tier an zwei aufeinanderfolgenden Tagen ausgeführt; zwischen beiden liegt eine Periode sehr geringer D.-Ausscheidung. Unter diesen Umständen möchten wir den Versuch 9 1 nicht für die Berechnung der Zuckerbildung aus d-Milchsäure zugrunde legen.

[3]) Ernährung und Stoffwechsel S. 281.

[4]) Ergebnisse d. Physiol. 10, 46.

[5]) Aus Essigsäure erhält man keine Zuckervermehrung beim Phlorizinhund (Ringer und Lusk, Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 106).

auch für den Übergang von Triosen in Methylglyoxal, doch ist dies schon unwahrscheinlich; sicher ausgeschlossen erscheint aber eine Umlagerung von Milchsäure in Methylglyoxal.

Wir haben hier eine exotherme, intramolekulare Umlagerung, die zu einem bei saurer und alkalischer Reaktion beständigen Endprodukt führt; es findet sich auch keine Andeutung einer Rückumlagerung von Milchsäure zu Methylglyoxal in saurer Lösung. Da also die Reaktion zu keinem Gleichgewicht führt und die im Organismus gegebenen Bedingungen dahin gehen, Milchsäure durch Überführung in Lactat dem Gleichgewicht zu entziehen, so haben wir keinen Grund, an die Möglichkeit einer solchen, der Affinität entgegengesetzten Reaktion zu denken. Fermente können auf die Richtung dieser Reaktion keinen Einfluß haben.

Man könnte vielleicht an Reduktionsprozesse denken, welche die Carboxylgruppe in eine Aldehydgruppe überführen; es spricht jedoch keine einzige biochemische Tatsache dafür, daß eine solche Reaktion vorkäme. Jedenfalls würde sie eine gewaltige äußere Energiezufuhr erfordern.

Es wurde bereits darauf hingewiesen[1]), daß Reduktionsprozesse, soweit sie im tierischen Organismus vorkommen, nur durch Umsetzung mit labilen Intermediärprodukten des oxydativen Abbaues oder durch Gärungsprozesse zustande kommen: Ein anderer Mechanismus erscheint uns undenkbar, denn es ist nicht einzusehen, wo die erforderlichen Energien herrühren sollten. Jeder Reduktionsprozeß, im tierischen Organismus ist unvollständig erforscht, solange man nicht weiß, welche Körper dabei oxydiert worden sind.

Auf jeden Fall wäre eine Überführung von 2 Molekülen Milchsäure in 1 Molekül Glucose mit einem Aufwand von 25 Cal. verbunden; sie kommt schon deshalb für den Betriebsstoffwechsel nicht in Betracht.

Wir suchten nach einer Reaktionsfolge, welche die Zuckerbildung aus Milchsäure mit ihrem oxydativen, energieliefernden Abbau vereinigen könnte.

---

[1]) Parnas, diese Zeitschr. 28, 285.

Hexosen können entstehen:

1. durch Kondensation von 2 Molekülen Triose[1]),
2. „ „ „ 3 „ Glykolaldehyd[2]),
3. „ „ „ 6 „ Formaldehyd[3]).

Ein Übergang von Milchsäure in eine Triose kann der erörterten thermochemischen Bedingung nicht entsprechen.

Ein Übergang von Milchsäure in Glykolaldehyd erschien auf folgende Weise denkbar.

1. $\underset{\text{Milchsäure}}{CH_3CHOHCOOH} + O \xrightarrow{\text{Oxydation}} \underset{\text{Glycerinsäure}}{CH_2OHCHOHCOOH}$

2. $\underset{\text{Glycerinsäure}}{CH_2OHCHOHCOOH} + O \xrightarrow{\text{Oxydation}} \underset{\beta\text{-Oxybrenztraubensäure}}{CH_2OHCO.COOH} + H_2O$
oder $\underset{\text{Halbaldehyd der Tartronsäure}}{CHO.CHOHCOOH} + H_2O$

3. $\underset{\text{Oxybrenztraubensäure}}{CH_2OHCO.COOH}$ / $\underset{\text{Halbaldehyd der Tartronsäure}}{CHO.CHOHCOOH} \xrightarrow{\text{Spaltung}} \underset{\text{Glykolaldehyd}}{CH_2OHC\genfrac{}{}{0pt}{}{\diagup O}{\diagdown H}} + CO_2$

4. $\underset{\text{Glykolaldehyd}}{3\,CH_2OHC\genfrac{}{}{0pt}{}{\diagup O}{\diagdown H}} \xrightarrow[\text{Kondensation}]{} \underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6}$

Die gesamte Reaktionsfolge stellt sich folgendermaßen dar[4]):

5. $3\,CH_3CHOHCOOH + 6\,O = C_6H_{12}O_6 + 3\,CO_2 + 3\,H_2O + 317\,\text{Cal.}$
$(490) \quad + 317\,\text{Cal.} = (300) \quad + (300) + (207)$

Sie liefert also pro Grammolekül gebildeter Glucose 317 Cal.; pro Grammolekül verbrauchter Milchsäure oder für jedes gebildete CO_2-Molekül etwa 106 Cal.

Daß auch jeder Teilprozeß der Reaktionsfolge exotherm ist, wird später gezeigt werden.

Zur experimentellen Prüfung dieser Vorstellung untersuchten wir die Substanzen auf ihre Fähigkeit, die Zuckerausscheidung phlorizinvergifteter Kaninchen zu erhöhen und in der überlebenden Schildkrötenleber Glykogen zu bilden[5]).

---

[1]) Mostowski, Compt. rend. 1911.
[2]) Im lebenden Organismus nicht nachgewiesen.
[3]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. 121, 636.
[4]) Die eingeklammerten Zahlen bedeuten die Bildungswärme der Substanzen aus ihren Elementen.
[5]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 1ff.

Ein hungerndes, mit Phlorizin vergiftetes Tier scheidet Glucose aus, welche sein Organismus unter Zersetzung von Eiweiß bildet. Nach einer geeigneten Phlorizindosis bleibt die Ausscheidung in kurzen Perioden gleichmäßig, in aufeinanderfolgenden 12stündigen Perioden zeigt sie eine leichte Senkung in der zweiten Periode.

Führt man zu Beginn der zweiten Periode Glucose zu, so erscheint ein Bruchteil im Harn und bewirkt eine Erhöhung der Zuckerausscheidung gegenüber der Normalperiode; die Stickstoffausscheidung bleibt dabei konstant oder sinkt ab.

Wirkt eine Substanz unter diesen Bedingungen ebenso wie Traubenzucker, so besteht auch eine gewisse Wahrscheinlichkeit dafür, daß sie in Traubenzucker übergegangen ist. Da von Zucker selbst nur ein Bruchteil zur Ausscheidung gelangt, wird von Substanzen, welche langsam, auf Umwegen und nur in geringer Ausbeute Zucker liefern, ein Ausschlag nicht zu erwarten sein.

Bei Versuchen an der isolierten Schildkrötenleber werden nur solche Reaktionen zur deutlichen Glykogenvermehrung führen, welche ohne Mitwirkung anderer Organe stattfinden. Bei der kurzen Dauer der Versuche und der Trägheit des Kaltblüterstoffwechsels sind positive Resultate für einen leichten und direkten Übergang der untersuchten Substanz in Glykogen beweisend.

Es wurden ferner unter Berücksichtigung anderer chemischer Möglichkeiten Substanzen auf ihre Überführbarkeit in Glucose geprüft, welche den hier betrachteten nahe verwandt oder homolog waren, aber außerhalb der angeführten Reaktionsfolge standen. Dadurch suchten wir eine Abgrenzung der zuckerbildenden Substanzen zu erreichen.

Es erwiesen sich als zuckerbildend:

Glykolaldehyd, Glykolaldehyddicarbonsäure, Glycerinsäure, Milchsäure, Äthylenglykol.

Es wurde kein Zucker gebildet aus β-Oxypropionsäure, α-Oxybuttersäure, Glykolsäure, Brenztraubensäure, α-β-Dioxybuttersäure, Glyoxylsäure.

Bildung von Glucose aus d-Milchsäure.

Wir bestätigten zunächst die Angaben von Mandel und Lusk. Bei einer wesentlich anderen Art der Glucosurieerzeugung am Kaninchen erhielten wir nach subcutaner Injektion von d- und inaktiver Milchsäure Werte für die Zuckerausscheidung, welche mit den meisten Versuchen von M. und L. übereinstimmen.

Wir stellten ferner fest, daß die überlebende Schildkrötenleber aus d-Milchsäure bei Sauerstoffzufuhr Glykogen aufbaut.

Isomere und Homologe der Milchsäure — β-Oxypropionsäure, α-Oxybuttersäure, Glykolsäure — bilden keinen Zucker. Dadurch wird bewiesen, daß die Fähigkeit, Zucker zu bilden, von der Struktur des Milchsäuremoleküls abhängt.

Bildung von Glucose aus Glykolaldehyd [1].

Die überlebende Schildkrötenleber führt Glykolaldehyd glatt in Glykogen über: die Reaktion erfolgt ebenso leicht wie die Glykogenbildung aus Glucose. 10 g Leber bilden bei 3stündiger Durchspülung mit 0,1%iger Glykolaldehydlösung 150 mg Glykogen.

Würde Glykolaldehyd nicht direkt, sondern nach oxydativen Abbau zu Formaldehyd in Glucose übergehen, so kämen als Zwischenprodukte Glykolsäure und Glyoxylsäure in Frage.

Weder Glykolsäure noch Glyoxylsäure wurden in der Schildkrötenleber in Glykogen übergeführt.

Glykolaldehyd wird leichter als Formaldehyd in Glykogen übergeführt [2]; wir erörtern deshalb nicht die Möglichkeit einer Spaltung des Glykolaldehyds in 2 Moleküle Formaldehyd als Zwischenstufe der Glykogenbildung.

Äthylenglykol, welches zu Glykolaldehyd oxydiert werden kann, liefert in der Schildkrötenleber Glykogen; diese Reaktion entspricht der Glykogenbildung aus Glycerin, welche vielleicht in entsprechender Weise über Triosen geht [3]. Im Phlorizindiabetes erwies sich das Äthylenglykol unwirksam; es bestehen bei ihm schon ziemlich zahlreiche Oxydationsmöglichkeiten.

Bildung von Glucose aus Glycerinsäure.

Ringer und Lusk [4]) haben bereits Versuche über Wirkung der Glycerinsäure auf die Zuckerausscheidung phlorizingluco-

---

[1]) Paul Mayer (Zeitschr. f. physiol. Chem. **38**, 351) hat bei normalen Kaninchen durch subcutane Injektion von Glykolaldehyd in zwei Versuchen Glucosurie erzeugt. Daß aus solchen Versuchen nicht auf Zuckerbildung aus Glykolaldehyd geschlossen werden kann, hebt der Autor selbst hervor.

[2]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. **121**, 636. — Mostowski, Compt. rend. **1911**.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. **118**, 1.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **66**, 106.

surischer Hunde angestellt und eine Zunahme der Glucosurie gefunden. Wir bestätigen diese Resultate am Kaninchen und heben besonders hervor, daß dieAusscheidung reichlicher ist, als nach äquimolekularen Gaben von d-Milchsäure.

Die isolierte, mit Sauerstoff versorgte Schildkrötenleber führt glycerinsaures Natron in Glykogen über. Aus einer 0,2%igen Lösung von Glycerinsäure (als Na-Salz) bilden 10 g Leber in 3 Stunden 120 bis 280 mg Glykogen.

Bei der Glycerinsäure kann Triosen- und Diosenkondensation in Erwägung gezogen werden. Sie kann einerseits durch Oxydation in Glykolaldehyd übergeführt werden, andererseits ist die Bildung von Triosen durch Reduktion formulierbar[1]).

Wir halten den letzten Vorgang, abgesehen von den schon erörterten Gründen für unwahrscheinlich, da Glykolsäure, die doch auf analogem Wege zu Glykolaldehyd reduziert werden müßte, keinen Zucker bildet[2]).

Für den Oxydationsübergang von Glycerinsäure in Glykolaldehyd kommt als Zwischenprodukt eine β-Oxybrenztraubensäure oder Glykolaldehydcarbonsäure in Frage. Die erste ist nicht bekannt; wir führten den Versuch unter Verwendung des Natronsalzes der Glykolaldehydcarbonsäure aus[3]) und schließen aus der leichten Glykogenbildung a fortiori, daß die Monocarbonsäure gleichfalls in Zucker übergeht[4]).

$$
\begin{array}{ccccccccc}
 & & +CO_2 & & COOH & & COOH & & +CO_2 \\
CH_2OH & & CH_2OH & & CHOH & \rightarrow & CHOH & & CH_2OH \\
HCO & \leftarrow & CO & \leftarrow & CO & & HCO & \rightarrow & HCO \\
+CO_2 & & COOH & & COOH & & +CO_2 & &
\end{array}
$$

Der Übergang von Milchsäure in Glycerinsäure ließ sich nicht direkt nachweisen; Glycerinsäure wird leichter als Milch-

[1]) Neuberg, Lachmann, Scott, diese Zeitschr. 24, 152 (elektrolytische Oxydation). — Neuberg, diese Zeitschr. 29, 383 (Übergang im Licht).

[2]) Lusk (Ernährung und Stoffwechsel 1910, S. 254) nimmt diese Reaktion zur Erklärung des Übergangs von Glykokoll in Zucker an.

[3]) Wir machen hier auf die chemischen Beziehungen dieser Säure zu Asparaginsäure aufmerksam; sie sind die gleichen, wie die des Alanins zu der Glykolaldehydmonocarbonsäure. Asparagin geht nach Embden und Salomon sowie nach Ringer und Lusk in Glucose über.

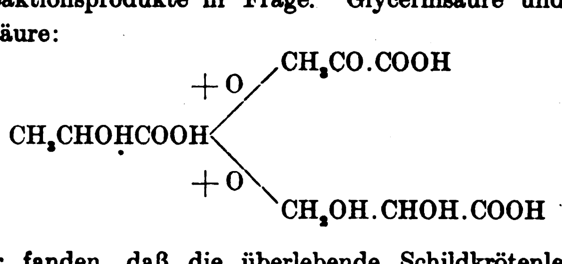
[4]) Das Natronsalz ist in wässeriger Lösung auch in der Wärme beständig; die freie Säure spaltet beide Carboxylgruppen ab.

säure zu Glucose und Kohlensäure abgebaut; die Möglichkeit, dieses Zwischenprodukt zu fassen, war von vornherein sehr gering einzuschätzen.

Zum Übergang von Milchsäure in Glycerinsäure muß eine Hydroxylierung in β-Stellung über ein bereits hydroxyliertes C-Atom hinweg stattfinden. Ein solcher Vorgang ist bis jetzt im Organismus nicht nachgewiesen; dagegen wurde ein ähnlicher Prozeß, der Übergang von α-γ-Dioxyglutarsäure in Trioxyglutarsäure wegen der Wirkung dieser Säure auf den Phlorizindiabetes des Hundes für wahrscheinlich gehalten[1]).

Die Bildung von Zucker aus Hydracrylsäure — über Glycerinsäure —, die dem Übergang von β-Oxyglutarsäure in die Trioxyglutarsäure entspricht, blieb in unseren Versuchen aus. Es bestehen bei Hydracrylsäure übrigens auch andere Oxydationsmöglichkeiten.

Für den oxydativen Angriff der Milchsäure kämen zwei erste Reaktionsprodukte in Frage. Glycerinsäure und Brenztraubensäure:



Wir fanden, daß die überlebende Schildkrötenleber aus Brenztraubensäure kein Glykogen bildet.

Diese Tatsache, daß Milchsäure auf anderem Wege als über Brenztraubensäure abgebaut wird, entspricht dem Verhalten der p-Oxyphenylmilchsäure zu der zugehörigen Ketosäure[2]).

Wenn überhaupt aus Milchsäure Brenztraubensäure entsteht, so trennen sich hier die Wege des Stoffwechsels; über Brenztraubensäure entsteht Alanin und Acetaldehyd, über Glycerinsäure Glucose.

Den entgegengesetzte Vorgang, Bildung von Glykogen und d-Milchsäure aus Alanin, haben Neuberg und Langstein beschrieben[3]).

---

[1]) Baer und Blum, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 15.

[2]) O. Neubauer, Habilitationsschrift München 1908, 18ff.

[3]) Neuberg und Langstein, Arch. f. Physiol. Suppl., **1902**, 519.

Dem Übergang von Milchsäure und Glycerinsäure in Glykolaldehyd entspricht chemisch die Bildung von Formaldehyd aus Glyoxylsäure und Glykolsäure. Da diese Körper keinen Zucker bilden, so scheint dem Vorgange keine allgemeine Bedeutung im Zuckerstoffwechsel zuzukommen.

Ob der analoge Abbau von Erythronsäure zu Triosen stattfindet, ist noch eine offene Frage.

Thermochemische Daten sind für die meisten hier in Frage kommenden Substanzen nicht bestimmt, lassen sich indessen aus Analogien beiläufig berechnen[1]).

Der Übergang von Glucose in Milchsäure dürfte eine Wärmetönung von 25 bis 26 Cal. haben. Aus der Verbrennungswärme der Milchsäure 329,5 Cal. berechnet sich die Bildungswärme der flüssigen Säure zu 160,4 Cal.; dazu kommt die Lösungswärme von 2 bis 3 Cal., die Bildungswärme der gelösten Milchsäure dürfte also 163 Cal. betragen. Die Bildungswärme gelöster Glucose ist 300,4 Cal., folglich ist die Bildungswärme der Milchsäure aus Glucose gleich etwa 25 Cal. Mit diesem Werte werden wir auch rechnen[2]).

---

[1]) Die Zahlen sind den Tabellen von Landolt-Börnstein-Meyerhoffer (2. Aufl.) sowie dem Chemikerkalender 1912 entnommen.

[2]) In den Tabellen von Landolt-Börnstein (2. Aufl.) ist die Bildungswärme der flüssigen Milchsäure mit 167,4 Cal. angegeben, während sich aus der Verbrennungswärme 160,4 Cal. ergeben. Berechnet man die Bildungswärme der Milchsäure aus der des Äthylesters (Longuinine, Ann. chim. [6] 8, 136) nach der Formel: (Ester) = (Säure) + (Alkohol) — (H_2O) — 2, so gelangt man zu einem noch niedrigeren Werte: 157 Cal. — Kruse (Allg. Mikrobiologie 1910) rechnet mit dem Wert von 15 Cal. für den Übergang von Glucose in Milchsäure, gibt aber dessen Ableitung nicht an. — Wohl (diese Zeitschr. 5, 45 ff.) rechnet mit dem Wert von 34,8 Cal., welcher der Bildungswärme 167,4 Cal. der Milchsäure entspricht (s. oben). Bei diesem — sicher zu hohen — Werte der Bildungswärme erscheint die Spaltung von Milchsäure in Alkohol und Kohlensäure als schwach endothermer Vorgang; bei dem Werte, den wir benutzen, wäre sie ausgesprochen exotherm. — Es geht daraus hervor, daß eine neue Bestimmung der thermochemischen Konstanten der Milchsäure sowie anderer verwandter Körper dringend zu wünschen wäre.

Die Wärmetönung, welche die Oxydation von Milchsäure zu Glycerinsäure begleitet, ergibt sich annähernd aus Analogien; sie dürfte etwa 47 Cal. betragen[1]).

In ähnlicher Weise läßt sich die Wärmetönung des Überganges von Glycerinsäure zu Glykolaldehyd zu etwa 50 Cal. berechnen[2]).

Bis zum Glykolaldehyd abgebaut, liefert also das Molekül Glucose etwa 210 Cal.; da nach unserer Betrachtung der Abbau von 3 Molekülen Glucose der totalen Verbrennung von 1 Mol. Glucose gleichkommt, so ergibt sich aus der Differenz:

$$\begin{array}{rl} \text{Verbrennungswärme der Glucose} = & 677 \text{ Cal.} \\ 3 \cdot 210 = & \underline{630 \quad ,,} \\ \text{der Wert} & +47 \text{ Cal.,} \end{array}$$

für Kondensationswärme von 6 Mol. Glykolaldehyd zu 2 Mol. Glucose, für das Mol. Glucose ca. 23 Cal., für das Mol. Glykolaldehyd ca. 8 Cal.

Die Reaktionswärmen in den einzelnen Stufen wurden hier so berechnet, als ob sich die Reaktion in rein wässeriger Lösung abspielte; im Organismus aber geht sie bei Gegenwart von überschüssigem Bicarbonat vor sich.

Dadurch verschieben sich die Wärmetönungen: in derjenigen Phase, in der Milchsäure entsteht, kommt die Neutralisationswärme mit Bicarbonat — ohne Freiwerden gasförmiger Kohlensäure gerechnet — mit etwa 2 Cal. hinzu, in derjenigen, in welcher dann aus Natriumglycerat Glykolaldehyd und Soda entsteht, wäre durch Überführung des Natriumcarbonats in Bicarbonat die gleiche Wärmemenge abzuziehen.

Fassen wir die Reaktionsstufen zusammen, so ergibt sich folgender Vorgang: 3 Moleküle Milchsäure (gelöst) werden zu

---

[1]) Propylalkohol . . 81,7 Cal. | Glykol . . . . 114 Cal.
Propionsäure . . 123,1 „ | Glykolsäure . 157 „
41,4 Cal. | 43 Cal.
Glycerin . . . . . 167 Cal. | Glycerinsäure 210 Cal.
+ 43 „ | Milchsäure . . 163 „
Glycerinsäure . . 210 Cal. | 47 Cal.

[2]) Glykolsäure + O = Formaldehyd + CO_2 + H_2O + 51,9 Cal.
(157) (40,4) (100) (68,5)
Milchsäure + O = Acetaldehyd + CO_2 + H_2O + 49 Cal.
(167) (47,5) (100) (68,5)

1 Molekül Glucose, 3 Molekülen Kohlensäure und 3 Molekülen Wasser unter Freiwerden von 317 Cal. oxydiert.

Zieht man noch die Bildung von Milchsäure aus Glucose hinzu, so ergibt sich die Reaktion:

$$3C_6H_{12}O_6 + 6O = 2C_6H_{12}O_6 + 6CO_2 + 6H_2O,$$

wobei intermediär 6 Moleküle Milchsäure entstehen.

Zu der oben angegebenen Zahl von 317 Cal., mit 2 multipliziert, kommt noch die Bildungswärme von 6 Molekülen Milchsäure aus Glucose hinzu: 75 Cal. Die Summe ergibt 709 Cal.; für die direkte Verbrennung von 1 Grammolekül gelöster Glucose zu Kohlensäure und Wasser berechnet sich die Wärmemenge 714 Cal. Beide Werte müssen natürlich gleich sein. Die Differenz hat die Unsicherheit der Konstanten für Milchsäure zur Ursache.

Wir haben den oxydativen Abbau der Glucose, der über Milchsäure, Glycerinsäure unter Abspaltung von Wasser und Kohlensäure zu Glykolaldehyd und Glucose führt, so beschrieben, als ob er der einzige Weg des Abbaus wäre. Wir sehen ihn auch als den Hauptweg für den Kohlehydratabbau im Betriebsstoffwechsel des tierischen Organismus an; aber wir sind uns darüber im klaren, daß von jeder Reaktionsstufe aus andere Wege eingeschlagen werden können.

So kann das Glucosemolekül selber durch direkte Oxydation in Glucuronsäure übergehen.

Die ersten Spaltungsprodukte (Dioxyaceton und Glycerinaldehyd) können durch Reduktion in Glycerin übergeführt werden, durch Oxydation Mesoxalsäure, durch Kondensation miteinander von neuem Glucose, durch Kondensation mit Glykolaldehyd Pentosen liefern[1]).

Methylglyoxal kann mit stickstoffhaltigen Substanzen Methylimidazol und Purinderivate bilden[2]).

Milchsäure kann durch Spaltung Alkohol, durch Oxydation Brenztraubensäure liefern: aus dieser gehen Acetaldehyd, Acetyl-

[1]) Neuberg, diese Zeitschr. 12, 337. — Euler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 45.

[2]) Windaus und Knoop, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 1167.

gruppen und Alanin hervor[1]). Von Glycerinsäure und ihren Keto- oder Aldehydsäuren kann sich einerseits Tartronsäure, andererseits Serin ableiten[2]).

Glykolaldehyd schließlich kommt wieder für die Pentosenbildung in Frage[3]).

Von einem dieser Zwischenprodukte nimmt vielleicht auch die Fettsäurensynthese ihren Ausgang.

Schließlich möchten wir noch betonen, daß wir die hier beschriebenen Zwischenprodukte der Zuckerspaltung keineswegs für die einzigen halten und die Frage der weiteren Zwischenprodukte — etwa wie sie in letzter Zeit in Gestalt von Phosphorsäureestern bei der alkoholischen Gärung aufgefunden wurden — völlig offen lassen. Uns lag hauptsächlich daran, die Richtung des Prozesses und die Oxydationsstufen festzulegen.

Der Muskel kann, ohne auspumpbaren Sauerstoff zu enthalten, in sauerstofffreier Atmosphäre und ohne Blutzufuhr zahlreiche Contractionen ausführen. Daraus schließt Hermann[4]), daß der zur Muskelcontraction zugehörige Prozeß keine Oxydation, sondern eine Spaltung ist, bei welcher „starke Affinitäten gesättigt werden". Derselbe Forscher folgert weiter: „Da nur arterielles Blut die Eigenschaft hat, die Erschöpfung des Muskels zu verhindern, so muß geschlossen werden, daß auch Sauerstoff sich an dem beständigen Ersatz der fraglichen Substanz beteiligt, also eine oxydative Synthese vorliegt."

---

[1]) Knoop, Zeitschr. f. phys. Chem. 67, 480; 71, 252. — Embden und Schunck, diese Zeitschr. 29, 423.

[2]) Embden und Schunck, diese Zeitschr. 29, 423.

[3]) H. Euler bemerkt in seiner „Pflanzenchemie" II, S. 183: „Noch glatter ließe sich die pflanzliche Säuresynthese erklären, wenn statt Acetaldehyd der Glykolaldehyd zum Ausgangspunkte genommen wird. Da jedoch bis jetzt keine Stütze für die Annahme einer intermediären Bildung von Glykolaldehyd bei der Zuckerdissimilation gefunden worden ist, wollen wir hier die mit diesem Stoff möglichen Synthesen nicht weiter diskutieren." Ferner: „Es kann als sichergestellt angesehen werden, daß wenigstens in fleischigen Früchten die Säuren keiner vollständigen Oxydation zu CO_2 und H_2O unterliegen; ein Teil des organischen Säuremoleküls wird, scheint es, zu rückgängigen Zuckersynthesen wieder verwertet. Man kann allgemein annehmen, daß die relativ sauerstoffärmeren Spaltreste, welche nach CO_2-Abgabe übrigbleiben, in statu nascendi zu Zucker kondensiert werden." Vielleicht kann der hier erörterte Chemismus Licht auch auf jene Vorgänge werfen.

[4]) Hermann, Physiologie 1910, 175. 176.

Diese scharfsinnige Folgerung stellt in allgemeinster Form die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung dar.

Betrachtet man die Respirationsversuche, in welchen die Erhöhung der Kohlensäureproduktion bei bestimmter Arbeit gemessen wird, und berechnet die Energiemenge, welche dabei auf die anaerobe Phase des Abbaus fallen kann, so erweist sie sich geringer als die tatsächlich geleistete Arbeit[1]). Man muß sich darum vorstellen, daß nicht nur die anaeroben Spaltungen in der Muskelmaschine Arbeit liefern, sondern daß noch ein anderer Mechanismus mitwirkt, und daß in diesem Mechanismus entstandene Veränderungen einen Teil der freiwerdenden Energie der Restitutionsprozesse binden und dadurch wieder rückgängig gemacht werden.

Diejenigen Untersuchungen, welche den mechanischen Wirkungsgrad des Muskels durch Versuche am intakten Tier ermittelten, haben immer zu viel kleineren Werten geführt als diejenigen, welche die Wärmebildung am isolierten Muskel untersuchten. Während nach Danilewskis[2]) Versuchen am Fickschen Froschmuskelpräparat die Anteile der mechanischen und thermischen Energie an dem Totalumsatz sich wie 1:1 verhalten, führen die zuverlässigeren Respirationsversuche von Johansson[3]) am Menschen zu dem Resultat, daß nur etwa 18% der umgesetzten Energie als Arbeit erscheint; der Rest wird in Wärme umgesetzt.

Nach Bürkers[4]) Versuchen arbeitet der isolierte Froschmuskel scheinbar um so günstiger, je näher er seiner totalen Erschöpfung ist.

Diese Befunde werden verständlich, wenn man bedenkt, daß bei den isolierten, nicht durchbluteten Muskeln die oxydativen Restitutionsprozesse ausbleiben; der Muskel zehrt dann in Spaltungen, aus deren Produkten nicht wieder Zucker wird, seine Vorräte auf und zerstört zugleich den Mechanismus, der seiner Contraction zugrunde liegt. Je mehr die Restitutionsprozesse ausbleiben, um so mehr bestreiten die Spaltungen den Umsatz; und wenn diese den mechanisch wirksamen Teil des Zuckerabbaus darstellen, so erscheint die scheinbar günstigere Ausbeute an Arbeit plausibel.

Die lokalisierte Bildung von Säure an Membranen und das dadurch hervorgerufene $H^{\cdot}$-Ionengefälle scheint das wichtigste Moment der vitalen mechanisch-chemischen Vorgänge wie Contraction und Sekretion darzustellen. Durch die bedeut-

---

[1]) Parnas, Arch. f. d. ges. Physiol. **134**, 494. Es wird gezeigt, daß die Wärmetönung der anaeroben Spaltung nur etwa $^1/_4$ der geleisteten Arbeit zu decken vermag; legt man unserer Formel des Zuckerabbaus, in welcher jedes Molekül CO_2 die intermediäre Bildung von 1 Grammmolekül Milchsäure anzeigt, der Berechnung zugrunde, so stehen für 1 Kilogrammolekül, also 2,35 g-cal., nur 1,56 g-cal. zur Verfügung.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. **45**, 355, 1889.

[3]) Skand. Arch. **11**, 273; **13**, 229.

[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. **109**, 217.

samen Untersuchungen von Girard[1]) werden die Erscheinungen der veränderten vitalen Permeabilität auf elektrostatische Polarisation von permeablen Membranen durch H˙-Ionenadsorption zurückgeführt.

Haber und Klemensiewicz[2]) gelangen auf Grund ganz anderer Vorstellungen zu dem gleichen Schluß über die Bedeutung der Funktion von Säureentstehung an Membranen.

Damit das gerichtete Säuregefälle, welches die Polarisation einer Membran aufrechterhält, bestehen bleibe, muß diffundierende Säure stetig entfernt werden.

Für Zellen oder Zellverbände mit großer Oberfläche, welche in großen Wassermassen oder überschüssigen Alkalilösungen leben, kommt die Aufgabe der Säurezerstörung nicht in Frage; dagegen wird sie zur prinzipiellen Bedingung des Bestehens für jeden Organismus, der abgeschlossene Körpersäfte hat und mit seinen Alkalivorräten haushalten muß.

Der hier beschriebene Chemismus des Zuckerabbaus stellt einen kraftliefernden, oxydativen Prozeß dar, welcher für die abgebaute Glucose eine maximale Säuremenge intermediär entstehen und verschwinden läßt.

Experimentelles.

Die Versuche an phlorizinvergifteten Tieren.

Die Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. Das Gewicht der Tiere betrug 1600 bis 2000 g.

Das Phlorizin (von Merck bezogen) wurde in einer Öl-Wasseremulsion subcutan injiziert; in ähnlicher Weise hatte Coolen[3]) durch Einspritzungen von Phlorizin in Ölsuspensionen langdauernde und gleichmäßige Glucosurien erzeugt.

10 g Phlorizin werden fein zerrieben, mit 20 ccm Olivenöl zu einer Salbe angerieben, unter fortwährendem Verreiben 20 ccm Wasser in kleinen Portionen zugefügt und die Masse mit Öl auf 50 ccm verdünnt. Die Emulsion ist gleichmäßig,

---

[1]) Journ. de Physiol. 13, 358, 1910.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 67, 385.

[3]) Arch. de Pharmacodynamic 1, 267, 1895.

setzt sich nur langsam ab und läßt sich durch eine nicht zu dünne Nadel leicht subcutan einspritzen.

Der Harn wurde mittels Katheter entnommen, die Blase je zweimal durchgespült und die Spülflüssigkeit mit dem Harn vereinigt.

Die ausgeschiedene Glucose wurde nach der Methode von Benedikt titriert[1]). Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt.

Die meisten Versuche wurden folgendermaßen angestellt:

Ein knapp ernährtes Kaninchen (50 bis 100 g Kartoffeln und 5 g Aleuronat im Tage) erhält ca. 30 Stunden nach der letzten Fütterung 2 g Phlorizin subcutan, 12 Stunden darauf 50 g Kartoffeln oder auch gar nichts. 48 Stunden nach der Phlorizininjektion erfolgt eine zweite von gleichfalls 2 g; die zu untersuchende Substanz wird 12 Stunden nach der Phlorizinzugabe injiziert. Die Harne beider 12 stündigen Perioden dienen zum Vergleich der Zucker- und Stickstoffausscheidung in denselben.

Wir haben auf die Erzeugung „vollständiger Glucosurien" im Sinne Lusks verzichtet, da uns mehr daran lag, an demselben Tier mehrere, womöglich positive und negative Resultate zu erlangen, als an dem $\frac{D}{N}$-Quotienten Berechnungen anstellen zu können. Wir waren nicht in der Lage, die Versuche an Hunden auszuführen; Kaninchen aber kann man in Stoffwechsel-

---

[1]) Journ. of Biolog. Chem. 9, 57, 1910. Diese überaus empfehlenswerte Methode sei hier wiederholt: 1. 200 g Natriumcitrat, 200 g kryst. Soda, 125 g Rhodankalium werden in 600 ccm Wasser gelöst und filtriert. 2. 18 g kryst. Kupfersulfat werden in 100 ccm Wasser gelöst. Die zweite Lösung wird langsam unter Umrühren zu der ersten gegossen, 5 ccm einer 5%igen Ferrocyankaliumlösung zugesetzt und auf 1 l verdünnt. Ausführung: 25 ccm der Lösung werden in einer Porzellanschale von etwa 100 ccm Inhalt mit 15 g kryst. Soda und reichlich Siedesteinen zum Sieden erhitzt; zu der siedenden Flüssigkeit läßt man aus einer in $^1/_{20}$ ccm geteilten, kalibrierten Pipette die Zuckerlösung tropfenweise einfließen. Der Umschlag von Blau in Weiß resp. von Grün in Gelb ist sehr scharf und vollzieht sich meist innerhalb eines Tropfens. 25 ccm des Reagens entsprechen 0,05 g Glucose; der Titer ist bei jeder Neuherstellung des Reagens zu bestimmen. Die Ausführung einer Bestimmung dauert 2 bis 3 Minuten.

versuchen bei Entziehung kohlenhydrathaltiger Nahrung nicht viel zumuten.

Die untersuchten Substanzen wurden in konzentrierter wässeriger Lösung subcutan gegeben.

Normalversuche.

Tabelle I.

Kaninchen Nr. 11
erhielt am 6. I. 0,5 g Phlorizin, am 10. I. 2 g Phlorizin.

Datum	Zeit	Periode Std.	Gift	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
12. I.	7 Uhr früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
	7 „ abends	12	—	140	1,337	1,5
13. I.	7 „ früh	12	—	108	1,01	1,36

Tabelle II.

Kaninchen Nr. 12, wie Nr. 11 vorbehandelt.

Datum	Zeit	Periode Std.	Gift	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
12. I.	7 Uhr früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
	7 „ abends	12	—	180	1,52	1,22
13. I.	7 „ früh	12	—	152	1,45	1,20
16. I.	7 Uhr früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
	7 „ abends	12	5 g Glucose	130	1,6	1,26
17. I.	7 „ früh	12	—	90	2,85	1,1

Tabelle III.

Kaninchen Nr. 15, erhielt am 22. I. 2 g Phlorizin.

Datum	Zeit	Periode Std.	Gift	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
24. I.	7 Uhr früh	—	2 g Phlorizin	—	—	—
	7 „ abends	12	—	196	2,21	0,95
25. I.	7 „ früh	12	—	120	1,545	0,86

Man sieht in allen diesen Versuchen den normalen Abfall der Phlorizinwirkung in der zweiten 12stündigen Periode; in dem Versuch 12 vom 16. I. sieht man die 1,25 g betragende Zunahme der Zuckerausscheidung, welche durch subcutane Injektion von 5 g Glucose bewirkt wurde.

Versuche über Zuckerbildung aus Milchsäure.

Es wurde inaktive Milchsäure von Merck, über das Zinksalz gereinigt, verwandt; ferner nach der Methode von Irvines[1]) dargestellte Fleischmilchsäure. Die Säuren wurden als Natronsalze in etwa 50%iger Lösung unter Zusatz von einigen Tropfen 25%iger $CaCl_2$-Lösung subcutan injiziert.

Tabelle IV.

Kaninchen Nr. 616.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Periode	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
12. II.	7 Uhr früh	—	—	—	—	—	—
12. II.	7 „ abends	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
13. II.	7½ „ früh	—	4,5 g inaktive Milchsäure in 2 Portionen	12h 30′	118	1,74	0,78
13. II.	7 „ abends	—	—	11h 30′	90	2,43	0,67
					Differenz:	+ 0,69	− 0,11

Kaninchen Nr. 621. 10. II. 2 g Phlorizin, 16. II. 2 g Phlorizin.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Periode	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
19. II.	7 Uhr früh	—	—	—	—	—	—
19. II.	7 „ abends	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
20. II.	8 „ früh	—	4,4 g d-Milchsäure als Na-Salz subcutan	13h	86	2,15 korr. 1,98	0,53 korr. 0,49
20. II.	8 „ abends	—	—	12h	65	3,43	0,54
					Differenz:	+ 1,45	+ 0,05

Hydracrylsäure (β-Oxypropionsäure).

Das Natronsalz dieser Säure wurde nach der Vorschrift von J. Wislicenus[2]) dargestellt durch Umsetzung von β-Jodpropionsäure mit Silberoxyd, die wir indessen in der Kälte sich vollenden ließen.

---

[1]) Journ. chem. Soc. 89, II, 935, 1906.

[2]) Annalen 166, 6.

Tabelle V.

Kaninchen Nr. 625.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Dauer Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
19. III.	abends	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
22. III.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
	7 „ abends	—	6 g hydracrylsaures Natron in 15 ccm	12	121	2,24	1,275
23. III.	7 „ früh	—	—	12	153	1,865	1,59
					Differenz:	— 0,38	+ 0,32

Versuche über Zuckerbildung aus Glycerinsäure.

Die Glycerinsäure wurde als Natronsalz — aus reinem krystallisierten Bleisalz durch Umsetzung mit Soda dargestellt — in 50%iger Lösung unter Zusatz von $CaCl_2$ subcutan gegeben.

Tabelle VI.

Kaninchen Nr. 11, s. Tabelle II.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Periode Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g	Bemerkungen
16. I.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
	7 „ abends		5 g Glycerinsäure als Na-Salz subcutan	12	160	1,34	1,57	
17. I.	7 „ früh			12	70	2,63	0,772	
					Differenz:	+ 1,29	— 0,8	
21. I.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
	7 „ abends		5 g Glycerinsäure als Na-Salz subcutan	12	145	2,11		
22. I.	7 „ früh			< 12	155	2,15		Tier tot
Kaninchen Nr. 15, s. Tabelle IV.								
29. I.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
	7 „ abends		5 g Glycerinsäure als Na-Salz subcutan	12	210	1,59	1,2	
				12	160	3,695	1,16	
					Differenz:	+ 2,1	— 0,09	

Versuche über Zuckerbildung aus Glykolsäure.

Die Glykolsäure wurde als Na-Salz — durch Umsetzung des krystallisierten Kalksalzes mit Soda erhalten — unter Zusatz von etwas $CaCl_2$ in 50 %iger Lösung subcutan gegeben.

Tabelle VII.
Kaninchen Nr. 11 s. Tabelle II u. VI.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Periode Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g	Bemerkungen
19. I.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
	7 „ abends	—	3,6 g Glykolsäure als Na-Salz subcutan	12	125	1,65	0,634	
20. I.	8 „ früh	—	—	13	255	1,71 reduz. auf 12h: 1,58 g	1,26 reduz. auf 12h: 1,16 g	
					Differenz:	— 0,13	+ 0,53	
Kaninchen Nr. 616, s. Tabelle V.								
19. II.	7 Uhr früh	—	—	—	—	—	—	
	7 „ abends	2 g Phlorizin						
20. „	7 „ früh	—	7,2 g Glykolsäure als Na-Salz subcutan	12	95	2,37	0,89	$\frac{D}{N} = 2,66$
	7 „ abends	—	—	12	200	3,17	1,3	$\frac{D}{N} = 2,44$
					Differenz:	+ 0,8	0,41	
					„ %	34	46	

α-Oxybuttersäure.

Die α-Oxybuttersäure wurde als Natronsalz — dargestellt aus einem Merckschen Präparat — in der sonst üblichen Weise subcutan gegeben.

Tabelle VIII.
Kaninchen Nr. 611.
24. I.: 2 g Phlorizin.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Dauer Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
26. II.	8 Uhr abends	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
27. „	8 „ früh	—	5 g α-Oxybuttersäure als Na-Salz	12	150	2,44	1,18
	8 „ abends	—		12	140	2,28	1,15
					Differenz:	— 0,16	— 0,03

α-β-Dioxybuttersäure.

Die Dioxybuttersäure wurde aus Crotonsäure mittels eines der Methode von Fittig und Kochs nachgebildeten Verfahrens dargestellt. Diese Forscher oxydierten Crotonsäure in eiskalter alkalischer Lösung mit Bariumpermanganat; wir verwendeten eine Lösung von crotonsaurem Kalk und oxydierten sie mit einer Lösung des käuflichen Calciumpermanganats.

20 g Crotonsäure wurden mit Calciumcarbonat neutralisiert, filtriert, auf 5 l mit Wasser verdünnt, mittels Kältemischung auf 0° abgekühlt, weiter mit Eis kalt gehalten. Dann wurden 800 ccm einer normalen Calciumpermanganatlösung (der Titer wurde jodometrisch bestimmt) unter energischem Rühren langsam zufließen lassen.

Die filtrierte Lösung wurde eingedampft, mit neutralem Bleiacetat umgesetzt und mit einem Tropfen verdünnter Essigsäure angesäuert. Das Bleisalz krystallisierte in glänzenden Täfelchen aus und wurde aus Wasser umkrystallisiert. Das Bleisalz ist wasserfrei.

0,5276 g des Bleisalzes geben 0,3592 g Bleisulfat.

Berechnet für $Pb\,(C_4H_7O_4)_2$: 46,45% Pb
Gefunden: 46,54% Pb.

Erhalten aus 20 g Crotonsäure 34 g des Bleisalzes (umkrystallisiert).

Das Natronsalz wurde durch Umsetzung des Bleisalzes mit Soda dargestellt.

Tabelle IX.
Kaninchen Nr. 621, s. Tabelle V.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Dauer Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g
23. II.	7 Uhr früh	1 g Phlorizin	—	—	—	—	—
	7 „ abends	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—
24. „	7 „ früh	—	5,8 g Dioxybuttersäure als Na-Salz	12	95	2,92	0,62
	7 „ abends	—	—	12	85	2,24	0,88
						Differenz: — 0,68	+ 0,26

Es liegt also auch hier eine typische Abnahme der Glucoseausscheidung neben einer geringen Erhöhung der Stickstoffausscheidung vor.

Äthylenglykol.

Mercksches Präparat; wurde mit Ringerscher Lösung verdünnt eingespritzt.

Tabelle X.

Kaninchen Nr. 621, s. Tabelle V u. IX.

Datum	Zeit	Gift	Nahrung	Dauer Std.	Harnmenge ccm	Dextrose g	Stickstoff g	Bemerkungen
6. III.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
7. „	7 „ abends	2 g „	—	—	—	—	—	
8. „	7 „ früh	—	5 g Glykol + 5 ccm Ring.-Lösungsalbe	12	106	2,25	—	
	7 „ abends	—	—	12	240	1,75	—	
					Differenz:	— 0,5	—	
			Kaninchen Nr. 611, s. Tabelle VIII.					
6. III.	7 Uhr früh	2 g Phlorizin	—	—	—	—	—	
7. „	7 „ abends	2 g „	—	—	—	—	—	
8. „	7 „ früh	—	5 g Glykol + 5 ccm Ring.-Lösungsalbe	12	128	1,55	—	
	7 „ abends	—	—	12	150	0,83	—	Tier in Agonie

Transfusionsversuche an überlebenden Schildkrötenlebern.

1. Versuchstiere. Wir benutzten Schildkröten der Gattung Testudo, und zwar zwei Arten: T. campanulata (Walbaum) und T. graeca.

Die Tiere waren verschieden groß, es gelangten solche von 300 g bis zu 1500 g zur Verwendung; die Lebern wogen von 8 g bis 50 g.

Am bequemsten und geeignetesten fanden wir Tiere von 500 bis 600 g Gewicht, besonders Weibchen: bei trächtigen Weibchen waren die Lebern immer groß und glykogenreich.

Die Versuche wurden in den Monaten Januar, Februar, März ausgeführt; die Tiere waren bereits mehrere Monate ohne Nahrung. Sie nahmen auch keine Nahrung an, sondern vergruben sich im Sand und schliefen. Magen und Darm war stets leer, soweit nicht der Dickdarm mit Oxyuren angefüllt war.

Man kann einer Schildkrötenleber auf den ersten Blick ansehen, ob sie an Glykogen reich oder arm ist. Glykogenarme Lebern sind klein, intensiv schwarz pigmentiert, sie haben eine dunkel blaugraue Farbe; glykogenreiche Lebern sind groß, voll, durchscheinend, ihre Farbe ist als gelbgrau zu bezeichnen.

Ausführung der Versuche.

Wir folgten im Prinzip der von K. Grube[1]) angegebenen Versuchsanordnung; wir änderten sie in einigen Einzelheiten, welche nachfolgend erörtert werden sollen.

1. Die Tiere wurden dekapitiert; Grube erwähnt nicht, ob dies in seinen Versuchen geschieht. Wir haben in zwei Versuchen, wo dies nicht geschah, beobachtet, daß schon in 15 Minuten Herzstillstand eingetreten war.

Wir haben uns natürlich davon überzeugt, daß auch die Lebern dekapitierter Schildkröten bei Transfusion zuckerhaltiger Flüssigkeit Glykogen ansetzten.

2. Wir durchspülen die gesamte Leber im Beginn des Versuches mit Ringerscher Lösung, bis sie aus dem Herzen nicht mehr blutig ausfließt; dann wird der Kontrollappen abgebunden und verbleibt in den 3 stündigen Versuchen bis zu Ende in situ, während der eigentliche Versuchslappen durchspült wird. Durch einen besonderen Versuch haben wir uns überzeugt, daß auch unter diesen Umständen der durchspülte Lappen — bei Anwendung reiner Ringer-Lösung, stärker an Glykogen verarmt, als der abgeschnürte.

Wir glauben, daß bei einer solchen Behandlung eine größere Gleichartigkeit der Bedingungen für beide Lappen hergestellt wird. Insbesondere, bezüglich des Flüssigkeitsgehaltes: in Grubes Anordnung wird der Kontrollappen mit Blut gefüllt gewogen, der Versuchslappen mit Ringerscher Lösung, was vielleicht nicht unerheblich ist.

3. Wir fügen das defibrinierte Blut des Versuchstieres zu der Durchspülungsflüssigkeit hinzu und sättigen dieselbe mit Sauerstoff, um die Bedingungen für die Oxydationsreaktionen günstiger zu gestalten.

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 1, 1907.

Schließlich möchten wir noch einige praktische Erfahrungen mitteilen, welche lediglich für den glatten und schönen Verlauf des Versuches von Bedeutung sind.

Das Aufsägen der Schalen führt man mittels einer Giglischen Drahtsäge schnell und bequem aus.

Nach Bloßlegung des Peritoneums ist die Kanüle sofort in den absteigenden Ast der V. umbilicalis sinistra einzubinden, und zwar soll die Spitze gerade an die Leber reichen, nicht in das Organ hineinragen. Man läßt dann sofort die Ringersche Lösung durchlaufen.

Die Spitze der Kanüle, welche in die Aorta eingebunden ist, soll vor dem Bulbus arteriosus liegen und nicht, wie Grube es vorschreibt, in das Ventrikel hineinragen. Das Herz funktioniert dann völlig normal, die Flüssigkeit aus dem Ableitungsrohr strömt nicht zurück, man kann sie auch direkt von dem Herzen in den höher gestellten Behälter pumpen lassen, von den aus man die Durchspülungsflüssigkeit in die Leber leitet.

Manche Substanzen (Glyoxylsäure, Brenztraubensäure) bringen die Kammer bald zum systolischen Stillstand; dann wird die Herzkanüle in das Ostium atro-ventriculare eingebunden: die Vorhöfe befördern die Flüssigkeit im rhythmischen Schlag.

Blutgerinnsel im Herzbeutel sind sorgfältig zu entfernen: sie komprimieren die Vorhöfe und können leicht den Versuch ins Stocken bringen.

Der Flüssigkeitsdruck betrug 10 bis 20 ccm Wasser; nur selten und nur beim Eintreten von Stockungen wurde für kurze Zeit höherer Druck angewandt.

Es ist besonders auf die Salzkonzentration der Durchspülungsflüssigkeit zu achten: es genügt, die Konzentration in der Lösung von 0,6 auf 0,9 % zu erhöhen, um überhaupt keinen Glykogenansatz aus Glucose zu erzielen.

Das aufgefangene Blut wurde mit Ringerscher Lösung verdünnt, durch Schütteln mit Glasperlen defibriniert, durch Glaswolle filtriert und der Durchspülungsflüssigkeit zugefügt.

Das Glykogen wurde nach der bekannten Methode von Pflüger isoliert, invertiert, die Glucose nach Bertrand bestimmt.

Wir verfahren dabei so, daß in demselben Kölbchen die Aufschließung des Gewebes, die Fällung des Glykogens, die Auswaschung durch Dekantation und die Inversion erfolgt. Wir waschen den Niederschlag nach Pflügers Vorschrift durch Dekantieren und gießen die Waschflüssigkeit durch ein kleines schwedisches Faltenfilter (Munktell 1. F.) immer so ab, daß nur Spuren des Niederschlages auf das Filter kommen. Schließlich wird das trockene Glykogenpulver durch heißes Wasser, welches man zuvor durch ein Faltenfilter gießt, in Lösung gebracht und invertiert.

Für die Glykogenbestimmung verwenden wir einerseits den abgebundenen rechten Lappen, aus dem die Gallenblase und die größeren Gefäße entfernt sind, andererseits den linken Lappen, gleichfalls nach Entfernung der größeren Gefäße und Häute; das Mittelstück der Leber lassen wir fort.

Wir bestätigen die Angaben von Grube[1]) und von Nishi[2]) über die gleichmäßige Verteilung des Glykogens in der Schildkrötenleber und nehmen in Anbetracht dessen auf die entgegengesetzte Meinung von F. Suckrow[3]) keine Rücksicht.

Wir bestätigen ferner die Angaben von Grube über die Abnahme des Glykogens in Leberlappen, welche mit reiner Ringerscher Lösung durchspült wurden. In Anbetracht dessen halten wir schon die kleinsten Zunahmen des Glykogengehaltes im durchspülten Lappen für sicher positiv.

Wir halten es für unzweckmäßig, in den Versuchsergebnissen die Zunahmen von Glykogen in Prozenten des ursprünglichen Bestandes anzugeben: es liegen keine Tatsachen vor, welche die Annahme rechtfertigen, die Fähigkeit, Glykogen zu bilden, sei von den vorhandenen Glykogenvorräten abhängig.

Bei dieser Berechnungsweise wird kleinen Zunahmen an glykogenarmen Lebern ein größeres Gewicht erteilt, als den gleichen oder größeren Zunahmen an glykogenreichen Lebern. Und da man vermuten kann, daß die Ausschwemmung bei

---

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **118**, 1.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **62**, 170.

[3]) Dissertation Gießen 1910.

großen Glykogenvorräten in größerem Umfang stattfindet, als bei kleinen, daß also die negativen Fehlerquellen bei den ersteren erheblich größer sind, so wird durch Angabe der Zunahme in Prozenten der Wert von Versuchen unrichtig hervorgehoben.

Im folgenden wird die Zunahme oder Abnahme des Glykogens in Milligrammen Glucose pro 10 g Leber angegeben werden.

1. Normalversuche.

1. Betreffend den Glykogengehalt beider Lappen. 5. I. 1912. Testudo graeca, klein.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	1,2 g	1,28 g
Gewicht der Glucose .	36 mg	36 mg
entsprechend . . .	3 %	2,8 %

2. 12. II. 1912. Betreffend Abnahme des Glykogens bei Durchspülung mit Ringerscher Lösung. Testudo campanulata. ♀

Die ganze Leber wird 30 Minuten lang mit Ringerscher Lösung durchspült, dann der rechte Lappen abgebunden und der linke noch 2 Stunden mit Ringerscher Lösung durchströmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	3,7 g	3,8 g
Gewicht der Glucose .	285 mg	200 mg
entsprechend . . .	7,7 %	5,26 %

10 g Leber verlieren 244 mg Glucose.

3. 1. III. 1912. Betreffend Glykogenbildung aus Glucose. Testudo campanulata. ♀

Der rechte Lappen nach Ausspülung abgebunden, linker 3 Stunden mit Ringerscher Lösung, die 0,5 % Glucose enthält, durchströmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	4,2 g	4,6 g
Gewicht der Glucose .	132 mg	229 mg
entsprechnnd . . .	3,14 %	4,98 %

Es bildeten 10 g Leber Glykogen entsprechend 184 mg Glucose.

4. 2. II. 1912. Testudo campanulata. ♀

Rechter Lappen durchspült und abgebunden, linker mit $2^1/_2$ % Glucose Ringerscher Lösung 2 Stunden 45 Minuten durchströmmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	2,52 g	6,40 g
Gewicht der Glucose .	18 mg	112 mg
entsprechend . . .	0,74 %	1,76 %

10 g Leber bildeten Glykogen entsprechend 102 mg Glucose.

2. Versuche über Glykogenbildung aus Glykolaldehyd.

Glykolaldehyd wurde durch Zersetzen gewogener Mengen der Glykolaldehyddicarbonsäure (Trioxybernsteinsäure) mit wenig Wasser bei 60° gewonnen[1]). Nef[2]) gibt an, zur vollständigen Zersetzung dieser Säure bedürfe es 10stündiger Digestion: wir können diese Angabe nicht bestätigen. Zersetzt man die rohe Säure, so findet man in der Zersetzungsflüssigkeit nach 30 Min. eine sehr geringe Säuremenge, welche nach weiterem 3stündigen Erhitzen nicht mehr abnimmt: sie rührt offenbar von adsorbierter Weinsäure oder Dioxyweinsäure her. Wir reinigen die rohe Säure durch Auflösen in wenig kaltem absoluten Alkohol und fällen die filtrierte Lösung mit dem doppelten Volumen Wasser. Das so gereinigte Produkt zeigt nach halbstündiger Zersetzung mit warmem Wasser keine saure Reaktion mehr.

5. 8. II. 1912. Testudo campanulata ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 2 g Glykolaldehyd in 80 ccm Wasser. 500 ccm doppelt konzentrierte Ringer-Lösung auf 1 l verdünnt.

Der linke Lappen wird 2 Std. 50 Min. lang durchströmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	4,2 g	5,5 g
gefundene Glucose .	205 mg	345 mg
entsprechend . . .	4,88 %	6,27 %

10 g Leber bildeten 139 g Glucose aus Glykolaldehyd.

---

1) Fenton-Jackson, Soc. **75**, 575. — Fenton, Soc. **67**, 778; **71**, 375.

2) Annal. d. Chem. **357**, 290, 1907.

6. 13. II. 1912. Testudo campanulata ♂.

Es wurde die Durchspülungsflüssigkeit der vorigen Versuche angewandt, die nach Enteiweißung mehrere Tage gestanden hatte. Dauer der Durchspülung: 3 Std. 5 Min.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,7 g	8,3 g
gefundene Glucose .	305 mg	490 mg
entsprechend . . .	5,35 %	5,9 %

10 g Leber bildeten aus Glykolaldehyd 60 mg Glucose.

7. 7. III. 1912. Testudo graeca ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 1 l doppelt konzentrierte Ringer-Lösung.

2 g Glykolaldehyd auf 2 l verdünnt. Das Blut wurde in die Flüssigkeit aufgenommen.

Linker Leberlappen 3 Std. durchspült. In der Stunde laufen 1100 ccm durch.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,72 g	10,15 g
gefundene Glucose .	165 mg	450 mg
entsprechend . . .	2,87 %	4,43 %

10 g Leber bilden aus 0,1 %iger Glykolaldehydlösung in 3 Std. 156 mg Glucose.

8. Versuche über Glykogenbildung aus Glycerinsäure.

Glycerinsäure wurde als Natronsalz verwendet; die Durchspülungsflüssigkeit wurde stets mit Sauerstoff gesättigt.

8. 17. II. 1912. Testudo graeca ♂.

Durchspülungsflüssigkeit: 420 ccm doppelt konzentrierte Ringer-Lösung.

2 g Glycerinsäure als Na-Salz auf 1 l verdünnt.

Leber klein, schieferblau, pigmentreich. Linker Lappen 3 Stunden durchströmt. Mit Sauerstoff gesättigt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	2,4 g	3,8 g
gefundene Glucose .	45 mg	117 mg
entsprechend . . .	1,87 %	3,08 %

10 g Leber bilden aus Glycerinsäure 121 mg Glucose.

9. 22. II. 1912. Testudo graeca ♂.

Durchspülungsflüssigkeit wie in Versuch 8, dazu das Blut des Versuchstieres in 120 ccm Ringer-Lösung.

Linker Lappen 2 Std. 45 Min. lang durchströmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,5 g	7 g
gefundene Glucose .	90 mg	310 mg
entsprechend . . .	1,63%	4,43%

10 g Leber bildeten aus Glycerinsäure 280 mg Glucose.

10. 22. II. 1912. Testudo graeca ♂.

Durchspülungsflüssigkeit des Versuchs 9, dazu noch das Blut des Tieres.

Dauer: 2 Std. 30 Min.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	9,5 g	10,5 g
gefundene Glucose .	472 mg	668 mg
entsprechend . . .	4,97%	6,36%

10 g Leber bildeten aus Glycerinsäure 139 mg Glucose.

4. Versuche über Glykogenbildung aus Fleischmilchsäure.

11. 8. III. 1912. Testudo graeca ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 800 ccm Ringer-Lösung (doppelt konzentriert).

4 g rechts Milchsäure als Na-Salz auf 2 l verdünnt. Blut des Tieres.

Durchspülungsdauer des linken Lappens: 2,5 Std.

Durchspülungsgeschwindigkeit: 1200 ccm in der Stunde.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	9,8 g	22,9 g
gefundene Glucose .	505 mg	1261 mg
entsprechend . . .	5,15%	5,5%

10 g Leber bildeten aus Milchsäure 35 mg Glucose.

12. 9. III. 1912. Testudo graeca ♀.

Flüssigkeit des Versuchs 11.

Dauer: 5 Std. 15 Min.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	8,3 g	9,4 g
gefundene Glucose .	140 mg	175 mg
entsprechend . . .	1,69 %	1,86 %

10 g Leber bildeten aus Milchsäure ca. 17 mg Glucose (?).

5. Versuche über Glykogenbildung aus Äthylenglykol.

Das Äthylenglykol wurde nach einer in Gattermanns „Praxis des organischen Chemikers“ enthaltenen Vorschrift durch Verseifung des Diacetats gewonnen.

13. 14. II. 1912. Testudo graeca ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 1 l Ringer-Lösung und 2 g Glykol.
Linker Lappen 3 Std. lang durchströmt.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,5 g	6,6 g
gefundene Glucose .	390 mg	465 mg
entsprechend . . .	7,1 %	7,05 %

14. 4. III. 1912. Testudo graeca ♂.

Durchspülungsflüssigkeit: 1 l Ringer-Lösung, 2 g Glykol, Blut des Tieres, Sauerstoff.

Dauer: 3 Std.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,75 g	8,15 g
gefundene Glucose .	210 mg	340 mg
entsprechend . . .	3,65 %	4,18 %

10 g Leber bildeten aus Äthylenglykol 52 mg Glucose.

6. Versuch über Glykogenbildung aus Glykolsäure.

15. 27. II. 1912. Testudo graeca ♂.

Leber klein, pigmentreich.

Durchspülungsflüssigkeit: 2,2 g Glykolsäure als Na-Salz.

400 ccm Ringer-Lösung (doppelt konzentriert) auf 1 l verdünnt. Dazu Blut des Tieres. Sauerstoff.

Dauer: 3 Std.

Durchspülung: 1400 ccm in der Stunde.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	4,25 g	6,05 g
gefundene Glucose .	17,5 mg	20 mg
entsprechend . . .	0,4 %	0,3 %

Die glykogenarme Leber verlor bei der Durchspülung mit glykolsaurem Natron pro 10 g 10 mg Glucose.

7. Versuche über Glykogenbildung aus Glyoxylsäure.

Glyoxylsäure wurde als Natronsalz — erhalten aus dem Kalksalz mit Soda — verwendet.

16. 26. II. 1912. Testudo graeca ♂.

Leber klein, pigmentreich.

Durchspülungsflüssigkeit: 1,2 g Glyoxylsäure (als Natronsalz), 175 ccm Ringer-Lösung (doppelt konzentriert) auf 500 ccm verdünnt.

Nach 1 Stunde bleibt die Kammer in Systole stehen. Die Kanüle wird in die Vorhöfe eingebunden.

Dauer der Durchströmung: 3 Std.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5 g	6,25 g
Glucose	52 mg	37 mg
entsprechend . . .	1,04 %	0,59 %

10 g Leber verlieren 45 mg Glucose.

17. 29. II. 1912. Testudo campan. ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 1,5 g Glyoxylsäure als Natronsalz. 2,5 l doppelt konzentrierte Ringer-Lösung, auf 5 l verdünnt, dazu Blut des Tieres in ca. 1 l Ringer-Lösung.

Dauer des Versuches: $6^1/_2$ Std. Herzkammer steht nach $1^1/_2$ Std. still. Rechter Lappen wurde nach 1 Std. entnommen.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,45 g	12,27 g
Glucose	250 g	235 g
entsprechend . . .	4,59 %	1,97 %

10 g Leber verloren 262 mg D.

8. Versuch über Glykogenbildung aus Brenztraubensäure.

18. 18. III. 1912. Testudo graeca ♀.

Durchspülungsflüssigkeit: 820 ccm doppelt konzentrierte Ringer-Lösung.

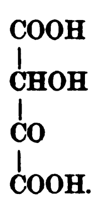
4 g Brenztraubensäure als Natronsalz auf 2 l verdünnt. Dazu Blut des Tieres und Sauerstoff.

Dauer der Durchströmung: 3 Std. Herz steht nach 30 Min. still. Die Kanüle wurde in den Sinus venosus eingebunden. Bei der Aufarbeitung wurde etwas Glykogen vom rechten Lappen verloren.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	8,8 g	10,65 g
Glucose	220 mg	195 mg
entsprechend . . .	2,5 %	1,8 %

10 g Leber verloren > 70 mg Glucose.

9. Glykogenbildung aus Glykolaldehyddicarbonsäure.



Über die Darstellung und Reinigung s. b. Glykolaldehyd.

Die Säure wurde mit Natronlauge neutralisiert, wobei das schwerlösliche Natriumsalz ausfiel; dieses wurde in der Wärme in Lösung gebracht.

19. 22. III. 1912. Testudo graeca ♀, klein.

Durchspülungsflüssigkeit: 2,5 g der Säure als Natronsalz. 550 ccm doppelt konzentrierte Ringer-Lösung auf 1200 ccm verdünnt. Dazu Blut des Tieres.

Dauer des Versuchs: 3 Std. Herzschlag gut.

	Rechter Lappen	Linker Lappen
Gewicht	5,85 g	7,22 g
Glucose	185 mg	305 mg
entsprechend . . .	3,16 %	4,22 %

10 g Leber bilden aus Glykolaldehyddicarbonsäure in 3 Std. 106 mg Glucose.

Zusammenfassung.

Aus Milchsäure, Glycerinsäure, Glykolaldehyddicarbonsäure und aus Glykolaldehyd entsteht im tierischen Organismus Glucose und Glykogen.

Aus Hydracrylsäure, α-Oxybuttersäure, Glykolsäure, α-β-Dioxybuttersäure, Glyoxylsäure und Brenztraubensäure wird keine Glucose gebildet.

Es wird daraus geschlossen, daß der Weg von Milchsäure zu Glucose über Glycerinsäure, Glykolaldehydcarbonsäure und Glykolaldehyd führt; in der ersten Reaktionsstufe erfolgt Oxydation, in der zweiten Oxydation und Wasserabspaltung, in der dritten Kohlensäureabspaltung, in der letzten Kondensation.

Aus drei Molekülen Milchsäure entsteht durch Oxydation ein Molekül Glucose.

Drei Moleküle Glucose werden also über sechs Moleküle Milchsäure zu zwei Molekülen Glucose und je sechs Molekülen Kohlensäure und Wasser abgebaut.

Der Vorgang ist in allen seinen Phasen exotherm.

Herrn Dr. Freise und Herrn Dr. Haas danken wir bestens für die freundliche Unterstützung bei der Ausführung der Blutdurchleitungsversuche.

Die pharmakodynamische Wirkung des Narkotins im Opium.

Von

Walther Straub.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 6. Mai 1912.)

Mit 3 Figuren im Text.

Die therapeutische Wirksamkeit des Opiums ist bekanntlich etwas verschieden von der seines Hauptalkaloids Morphin, so daß für die Verwendung der reinen Substanz oder ihrer Rohdroge sich bestimmte, praktisch bewährte Indikationen herausgearbeitet haben. Sicherzustehen scheint, daß das Opium, nach Maßgabe seines Morphingehaltes dosiert, stärker narkotisch auf das Großhirn und weniger lähmend auf das Atemzentrum wirkt. Die pharmakologische Analyse des Problems hat bei der Feststellung haltgemacht, daß dem Opium ohne Beeinträchtigung seiner Überlegenheit alle nichtalkaloidischen Bestandteile genommen werden können, daß m. a. W. die Opiumwirkung die seiner sämtlichen Alkaloide ist und diese alle zusammen therapeutisch günstiger wirken als das Hauptalkaloid, das Morphin.

Auf dieser Feststellung beruht bekanntlich das technisch hergestellte Pantopon, das Gemisch der salzsauren Salze aller Opiumalkaloide.

Indessen darf die Analyse hier noch nicht stehen bleiben. Es ist a priori mehr wie unwahrscheinlich, daß zur Verbesserung der Morphinwirkung alle zwei Dutzend Alkaloide mitgeschleppt werden müssen, vielmehr anzunehmen, daß entweder nur die wirksamsten oder die im größten Prozentsatze vorhandenen Alkaloide in Frage kommen werden.

Die sechs Hauptalkaloide des Opiums sind durchschnittlich in folgender Mengenverteilung im Opium enthalten

Morphin	ca.	10,0 %
Narkotin	„	6,0 %
Papaverin	„	0,1 %
Codein	„	0,03 %
Narcein	„	0,02 %
Thebain	„	0,01 %[1])

oder: die therapeutisch gebräuchliche Dosis von 0,01 g Morphin in Form von 0,1 g Opium schleppt mit:

Narkotin	ca.	0,006 g
Papaverin	„	0,0001 g
Codein	„	0,00003 g
Narcein	„	0,00002 g
Thebain	„	0,00001 g[2])

Von diesen Alkaloiden gelten als unwirksam nach v. Schröder[3]) Narkotin, Papaverin und Narcein, zwar nicht absolut,

[1]) Nach N. Simon, Dissert. Bern 1903, S. 34.

[2]) Da der springende Punkt diese r Arbeit das Narkotin sein wird habe ich mich über den Narkotingehalt des Opiums besonders zu orientieren versucht. Die Angaben gehen hier sehr weit auseinander, wofür die verschiedensten Gründe, von der technischen Schwierigkeit der Analyse bis zur Inkonstanz der Ausgangsmaterialien maßgebend sein mögen. Es ist deshalb sehr wohl möglich, daß die oben angegebenen Zahlen von Simon nicht allgemeine Geltung haben mögen. Sahli rechnet in der Einführungsarbeit für Pantopon (Therap. Monatshefte Jan. 1909) mit 5 bis 7% Narkotin bei 9 bis 12% Morphin. Die Angaben von Brühl (Pflanzenalkaloide 1900) lassen für Narkotin einen Spielraum von 0,75 bis 9%, für Morphin 3 bis 23% usw. Auf besonderes Befragen bekam ich von einer Morphinfabrik die Auskunft, daß das dort verwendete türkische Opium etwa 1½%, das persische 4 bis 5% Narkotin enthalte. Danach werden auch die galenischen und anderen Opiumpräparate, bei deren Herstellung ja nur auf den vorgeschriebenen Morphintiter zu achten ist, im Narkotingehalt weit auseinander gehen. Das Extr. Opii von Merck enthält z. B. nach Auskunft der Firma 1,5% Narkotin. Zwei Sorten Rauchopium (Tschandu) wurden mir in freundlicher Weise von der Firma Böhringer in Mannheim untersucht, davon enthielt Siam-Tschandu aus der Regie in Bangkok 2,04% und Batavia-Tschandu aus der Holländischen Regie 1,8% Narkotin. Jedenfalls wird man aber sagen müssen, daß der Menge nach unter den Nebenalkaloiden das Narkotin an erster Stelle steht.

[3]) v. Schröder, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 17, 96.

sicher aber in obigen Mengen für sich allein verwendet. Codein und Thebain sind wirksam; die Codeinmenge im Opium ist gleichfalls zu klein, um allein eine Wirkung zu haben und auch für das weit stärker, aber qualitativ verschieden wirksame Thebain halte ich unter obigen Bedingungen eine Wirksamkeit für unwahrscheinlich.

Zur Erklärung des „Opiumeffektes", wie ich der Kürze halber die bessere Wirksamkeit der Droge gegenüber dem Morphin bezeichnen werde, wird die Annahme einer rein additiven Beteiligung der Nebenalkaloide nicht ausreichen und man wird sich kaum der Vermutung einer Potenzierung der Wirkung verschließen können.

Aus rein arithmetischen Gründen muß a priori bei der Annahme einer Wirkungspotenzierung die Wirksamkeit oder der Wirkungsgrad der potenzierenden Substanz an sich in den Hintergrund treten gegen ihre wichtigere absolute Größe. Die pharmakologische Analyse des Opiumeffektes wird so durchzuführen sein, daß die einzelnen Nebenalkaloide auf ihr Potenzierungsvermögen unbekümmert um ihre eigene Wirksamkeit zu prüfen sind. Damit ist in erster Linie Potenzierung von Narkotin zu erwarten, von dem ja ein Vielfaches der Summe aller anderen Nebenalkaloide im Opium enthalten ist.

Ich habe aus diesen Überlegungen heraus den Opiumeffekt zuerst mit der Kombination Morphin-Narkotin untersucht.

Methode.

Es handelt sich darum, Morphinwirkungen an Tieren auszuwählen, die als Indicatoren der durch die Kombination mit Narkotin u. a. quantitativ und qualitativ geänderten Reaktion des Morphins gelten können. Als solche fand ich brauchbar:

1. Die Exzitationswirkung, die das reine Morphin an Katzen äußert. Bekanntlich geraten diese Tiere durch Morphin in einen Zustand äußerster psychischer und motorischer Erregung. Sie toben, scheinen zu halluzinieren, haben maximal erweiterte Pupillen (Prodromalerscheinung!), eine Erscheinung, die stundenlang anhält und zuweilen bis zum Tode durch Erschöpfung führen kann. Dabei ist das Tier nicht bösartiger geworden, es faucht nicht und schlägt nicht, und mit kräftigem Griff kann

man es ohne Protest aus dem Käfig nehmen, was z. B. bei einer durch den Hund gereizten normalen Katze nicht ratsam ist. Ich deute die Erscheinung so, daß das Morphin für diese Tiere ein sehr schwaches Großhirnnarkoticum ist, das nur jenen ersten Grad von Narkose hervorbringt, den man beim Äther usw. als Exzitationsstadium kennt — ein Stadium cerebraler Unordnung. Die unterste Morphindosis dafür ist nach meinen Erfahrungen etwa 10 mg, 20 bis 50 mg sind für ein überhaupt geeignetes Tier sichere Dosen. Nicht alle Tiere bekommen diese Morphinreaktion, ich habe mehrmals glatte Versager gefunden, die nicht einmal die Initialerscheinungen der weiten Pupillen zeigten.

2. Die spezifische Narkose des Atemzentrums auch bei kleinen Dosen (10 mg Morphin). Ein so annarkotisiertes Atemzentrum braucht bekanntlich einen starken Kohlensäurereiz, um sich zu gesteigerter Tätigkeit aufzuraffen. Ich habe in meinen Versuchen die Reizgröße einer 10% Kohlensäure in Luft enthaltenden Atmosphäre gewählt, diese während der ganzen Versuchsdauer konstant gehalten und die Änderung der zu prüfenden Kombination von Alkaloiden nach Frequenz und Volum der Atmung verfolgt. Versuchstiere Kaninchen. Die Methode stammt bekanntlich von A. Loewy[1]) und ist von ihm auch schon zur Prüfung des Pantopons[2]) auf Atemzentrumswirkung verwendet worden.

3. Die vergleichende Toxizität der Kombinationen, gemessen an der letalen Minimumdosis. Als Versuchstiere verwandte ich aus Gründen der Sparsamkeit weiße Mäuse. Dabei fand ich

4. die äußerst empfindliche biologische Reaktion dieser Tiere auf Morphin, bestehend in einer maximalen und stundenlang anhaltenden lordotischen Krümmung der Schwanzwirbelsäule, die in meinem Laboratorium inzwischen methodisch von Herrmann[3]) bearbeitet worden ist. Diese Reaktion kann als genauer Indicator für Minimumwirkungen, d. h. glatt reversible therapeutische Wirkungen verwendet werden.

---

[1]) A. Loewy, Arch. f. d. ges. Physiol. **47**.

[2]) A. Loewy, Münch. med. Wochenschr. **1910**, Nr. 46.

[3]) O. Herrmann, diese Zeitschr. **39**, 216, 1912.

Versuche.

1. Katzenversuche. Kombination Morphin und Narkotin.

2 Katzen A und B von gleicher Größe.

Katze A mit 0,050 Morphin subcutan, gerät nach 30 Minuten in stärkstes Toben.

Katze B bekommt 0,100 g Narkotin-HCl subcutan. Nachdem innerhalb 1 Stunde keinerlei narkotische Wirkung sich gezeigt, werden ihr 0,050 Morphin-HCl gleichfalls subcutan injiziert. Im Laufe der nächsten 2 Stunden sitzt das Tier apathisch in der Ecke, es schläft zwar nicht, ist aber sichtlich abgestumpft gegen die Außenwelt, z. B. auch gegen die tobende Käfiggenossin. Von der 3. Stunde an wird das Tier lebhafter, weite Pupillen, Bewegungsdrang, aber kein Toben, wie beim Kontrolltiere.

Katze A wird während des stärksten Tobens aus dem Käfig gezogen und bekommt 0,100 Narkotin-HCl subcutan. Keine Änderung in der bestehenden Morphinwirkung.

Katze B bekommt 2 Tage später 0,050 Morphin-HCl subcutan und gerät dadurch ins stärkste Toben wie vorher die Katze A.

Der Versuch ist deshalb beweisend, weil die Katze B später auf Morphin gesetzmäßig reagierte. Die Deutung des Versuchs ist die, daß die Vorbehandlung mit Narkotin die Exzitationswirkung des Morphins verhindert und statt ihrer eine rein, wenn auch schwach narkotische Wirkung zustande kommen läßt. M. a. W. durch Vorbehandlung mit Narkotin wird die Morphinwirkung am Großhirn verstärkt. Eine Nachbehandlung mit Narkotin ist ohne Erfolg, also handelt es sich nicht um Addition zweier Wirkungen, sondern um Potenzierung der einen Morphiumwirkung.

Ich habe den Versuch wegen seiner prinzipiellen Wichtigkeit oftmals wiederholt, und niemals gesetzwidriges Verhalten gefunden. Es konnte wohl vorkommen, daß einmal ein Tier ein Morphinversager war, aber nie war ein auf Morphin reagierendes Tier ein Narkotinversager im Sinne des obigen Versuchs.

Für das Gelingen des Versuchs ist es wichtig, unbenutzte Tiere zu verwenden und mit möglichst kleinen Morphindosen zu operieren. Katzen gehen nach oft wiederholten Morphindosen immer zugrunde und werden manchmal schon nach einer großen Einzeldosis morphinkrank. Diese als Nachwirkung auftretende Morphinempfindlichkeit der Katzen ist sehr merkwürdig, eine Erklärung dafür ist mir nicht bekannt.

Im Opium wird Morphin mit Narkotin gleichzeitig einverleibt. Ich habe deshalb auch Lösungen, die die beiden

Alkaloide gleichzeitig enthielten, subcutan appliziert. Der Erfolg war dem Sinne nach meist analog demjenigen bei Vorbehandlung mit Narkotin. Die Katzen tobten wenig oder gar nicht bei Injektion einer Mischung von 0,05 mg Morphin + 0,05 mg Narkotin, gerieten aber in stärkste Aufregung, wenn ihnen nach einigen Tagen die gleiche Morphindosis allein appliziert wurde. Von einer Steigerung der Narkotindosis bei Konstanz der Morphinmenge habe ich keine weitere Zunahme der narkotischen Wirkung bemerkt, es scheint also Narkotin, zu gleichen Teilen zum Morphin gegeben, schon optimalen Opiumeffekt zu bringen. Ich habe diese Kombinationsversuche nicht weiter quantitativ ausgebaut, da die Morphindosen bei Katzen individuell sind und möglichst sofort getroffen werden müssen, ein längeres Ausprobieren ist wegen der Nachwirkung bei diesen Versuchstieren unmöglich.

Jedenfalls ist aber das Resultat dieser Reihe von Versuchen dafür überzeugend, daß das Narkotin die Morphinwirkung potenziert.

2. Die Erregbarkeit des Atemzentrums.

Die Versuchsbedingungen waren folgende. Das tracheotomierte Tier atmet mit Ventilen durch eine Gasuhr, das Minutenvolumen wird abgelesen, die Atemfrequenz durch eine Mareysche Kapsel während der gleichen Dauer registriert. Die Größe des Reizes für das Atemzentrum ist eine 5 resp. 10% Kohlensäure enthaltende Luft, die in großen Säcken vor dem Versuch zurechtgemischt wird. Die Effektgrößen dieser Reize am Atemvolumen vor und nach Morphin usw. werden verglichen.

Resultate.

A. Das Minutenvolumen a des Normalzustandes erfährt durch die Einatmung der 10% Kohlensäure enthaltenden Atmosphäre eine Vermehrung um 90%. Nach der intravenösen Injektion von 0,005 g Morphin sinkt das Atemvolumen bei Luftatmung auf 0,65 a, und erfährt durch die Einatmung der 10% CO_2 haltenden Luft keinen Zuwachs. Dieses Wirkungsmaximum dauert kurze Zeit, aber auch nach 4 Stunden ist das Atemvolumen in Luft mit 0,9 a noch nicht wieder normal und der

Zuwachs durch die 10% CO_2-Atmosphäre nur der dritte Teil von dem im normalen Zustande. Die Fig. 1 gibt dieses Resultat als Diagramm. Die absoluten Größen sind in dieser Darstellung wie auch in den Vergleichsdiagrammen ignoriert, die Variationen als Prozente von Normalvolumen a in Luftatmung eingetragen.

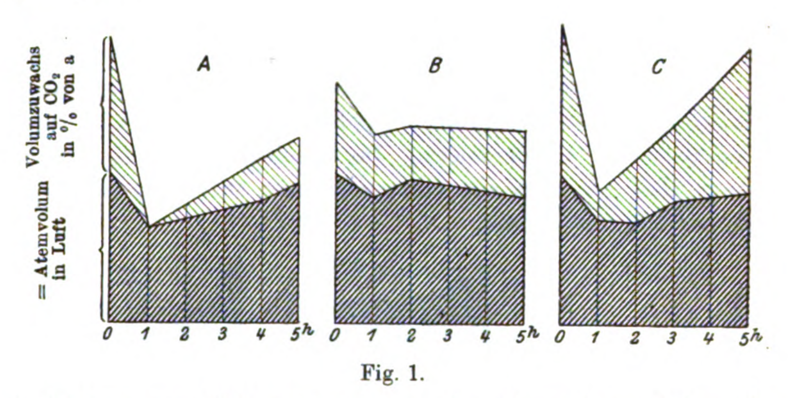


Fig. 1.

A. Wirkung von 0,005 g Morphin auf das Atemzentrum. Intravenös appliziert, schwarzes Feld natürliche Atmung, schraffiertes Zuwachs der Atemvolumina durch den Reiz einer 10%igen CO_2-Atmosphäre, Abszissenwerte Stunden, Ordinaten Prozente der Normalwerte der Atemvolumina im nicht morphinisierten Zustande (Punkt O der Abszisse).

B. Wirkung der gleichen Menge Morphin am Tier, das vorher mit Narkotin behandelt wurde.

C. Wirkung einer Mischung gleicher Teile (0,005 g) Morphin und Narkotin.

B. Gibt man einem Versuchstier 0,050 g Narkotin und nach einigen Minuten die Menge von 0,005 g Morphin wie im obigen Versuche, so ändert sich das Bild — Fig. 1 B — dahin, daß das Atemvolumen weniger vermindert wird, sowohl bei Luftatmung als auch besonders bei 10%iger CO_2-Atmosphäre. (In dem Versuch war der Volumenzuwachs bei CO_2-Atmung geringer als im ersten, das liegt aber in der Individualität des Versuchstieres.) Die Vorbehandlung mit Narkotin hat also die Folge, daß das Morphin eine geringere Wirkungsintensität auf das Atemzentrum äußert.

Der Zuwachs des Atemvolumens auf CO_2-Reiz ist der Ausdruck einer zentralen Regulation, der Versuch demnach quoad Narkotin so zu interpretieren, daß durch Vorbehandlung mit

Narkotin die Regulationsbreite des Atemzentrums durch Morphin vergleichsweise weniger eingeengt wird.

C. Die Vorbehandlung ist nun nicht unbedingt nötig, sondern stellt nur ein Optimum dar, denn gibt man 0,005 g Morphin gleichzeitig mit einem äquimolekularen Quantum Narkotin, so tritt immer noch das Bild der Fig. 1 C auf, d. h. kein völliges Verschwinden der Regulation durch das Atemzentrum und ein rasches Wiedererreichen der normalen Regulationsbreite.

Dieselben Versuche wurden unter sonst gleichen Bedingungen, aber bei subkutaner Applikation des Morphins usw. wiederholt (Dr. O. Herrmann). Ihr Resultat ist so völlig gleichsinnig, daß ich mich mit kommentarloser Mitteilung der Diagramme begnügen kann.

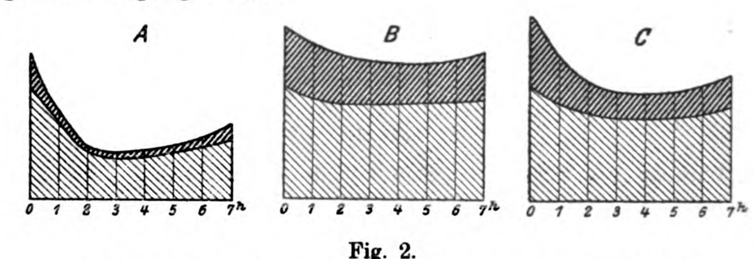


Fig. 2.

Fig 2 A, B, C. Narkotineinwirkung bei subcutaner Applikation. Werte und Bedingungen wie bei Fig. 1.

In einer weiteren Reihe wurde die Bedeutung der Quantität des Narkotins ermittelt (Dr. P. Pott). Den Tieren wurden gemischte Salze — über diese wird an anderer Stelle berichtet werden — des Morphins mit dem Narkotin injiziert, und zwar in solchen Mengen, daß die Morphinmenge stets 0,01 g war. Verwendet wurden im Vergleich mit Morphin — Fig. 3 A — das phenoldisulfosaure Morphin-Narkotin (1 Morphin + 1 Narkotin, Fig. 3 C) und das salicyldisulfosaure Morphin_2.Narkotin_1 (1 Morphin + $^1/_2$ Narkotin), Fig. 3 B. Das ohne weiteres aus den Diagrammen abzulesende Resultat ist das, daß die Kombination äquimolekularer Mengen der beiden Alkaloide schon das Optimum bietet. Die Kombination 1 Morphin + $^1/_2$ Narkotin (Fig. 3 C) entspricht etwa dem Alkaloidverhältnis im Opium, dieses stellt also noch kein Optimum dar. Die Versuche mit Narkotinvorbehandlung (s. o.) lehren, daß auch ein Mischungsverhältnis 1 Morphin + 2 Narkotin den „Opiumeffekt“ nicht mehr

verbessern würde. In der Folge habe ich immer mit dem von mir dargestellten Morphin-Narkotin-Mekonat gearbeitet, das ich der Kürze halber **Narkophin** nennen will.

Kombinationen des Morphins mit anderen Opiumalkaloiden.

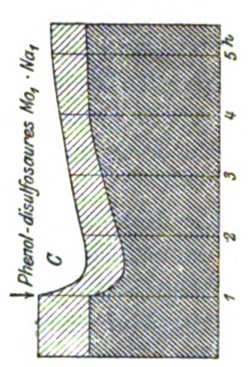
Im Anschluß an diese Reihe sind die Kombinationen Morphin + Codein, Morphin + Papaverin, Morphin + Narcein geprüft worden (Dr. P. Pott). Sie sind unwirksam im Sinne des Opiumeffektes.

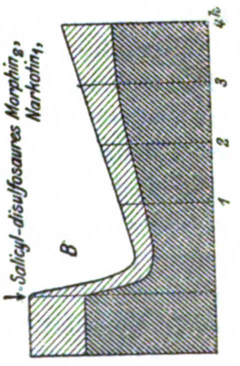
Resultat dieser Versuchsreihe.

Das Narkotin des Opiums allein ist imstande, die Schonung des Atemzentrums zu veranlassen, einen der bekannten Vorzüge des Opiums vor dem Morphin. Da die Lähmung des Atemzentrums die fatalste Nebenwirkung des Morphins ist, ist in dieser Hinsicht das Opium ein weniger gefährliches Präparat.

3. Vergleichende Toxizitätsbestimmungen.

Zu diesen Versuchen benutzte ich weiße Mäuse, an denen — bei stets subcutaner Applikation — jeder Wert durch eine große Anzahl von Parallelbestimmungen festgelegt wurde. Die Zahlen sind übrigens an den Tieren mit auffallender Schärfe zu gewinnen. Kontrollen meiner eigenen Bestimmungen wurden von Dr. Herrmann angestellt, dem ich verschieden konzentrierte Lösungen ohne Bekanntgabe des Inhalts gab.





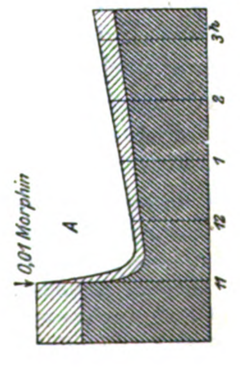


Fig. 3 A, B, C. Erläuterungen wie zu Fig. 1.

Die tödliche Minimumdosis für die durchschnittlich 20 g schwere Maus ist für Morphin 0,015 g[1]), der Tod tritt nach mehreren Stunden unter Lähmungserscheinungen ein. Die tötliche Dosis von Narkotin ist nicht scharf anzugeben, Mengen von 0,022 g[2]) sind aber sicher noch ertragbar. Das Narkotin ist in diesen großen Mengen nicht unwirksam, die Tiere liegen in Krämpfen (rollen z. B. um ihre Längsachse) stundenlang, erholen sich indessen völlig aus der Vergiftung und zeigen auch bei der wochenlangen weiteren Beobachtung normales Verhalten.

Die Kombination beider hat eine sehr erhöhte Toxizität, denn die tödliche Minimumdosis Narkophin (1 Morphin + 1 Narkotin) liegt scharf bei 0,008 g, entsprechend einem Gehalt von 0,0025 g Morphin; die Erscheinungen dieser Vergiftung sind reine Morphinsymptome, also handelt es sich bei der Wirkungsverstärkung um eine reine Potenzierung der Morphinwirkung durch das unwirksame Narkotin, die hier auf das sechsfache erhöht wird.

Die untersuchten anderen Alkaloide Narcein, Papaverin, Codein erwiesen sich mir auch hier im Sinne einer nennenswerten Potenzierung als wirkungslos.

Die Bedeutung des Narkotins zeigt sich denn auch bei den Toxizitätsbestimmungen galenischer Präparate. Die Toxizität des Opiumextraktes muß größer sein, als seinem Morphingehalt entspricht; ich fand in einem Merckschen Präparate mit 20% Morphin den Wert von 0,003 g auf Morphin berechnet. Ebenso prüfte ich Rauchopium (Tschandu) der holländischen Regie in Batavia, das mir diese freundlichst zur Verfügung stellte, auf seine Toxizität und fand die Minimumdosis bei 0,006 g des 20% Wasser enthaltenden Präparates, also ebenfalls noch weit unterhalb der des reinen Morphins, das im Tschandu kaum zu mehr als 20% enthalten sein wird. Bekanntlich enthält das auf sehr komplizierte Weise durch Rö-

---

[1]) Dieser Wert war konstant für die ganze Untersuchungsreihe, er ist aber wie alle biologischen Wertbestimmungen kein absoluter. In einer zweiten, ein halbes Jahr später angestellten Reihe wurde der Wert 0,012 konstant gefunden.

[2]) Die Applikation größerer Narkotindosen stößt bei der Kleinheit der Tiere auf technische Unmöglichkeiten.

sten u. a. bereitete Rauchopium immer noch beträchtliche Mengen Narkotin[1]). Vgl. die Tabelle.

Substanz	Tödliche Dosis g	
Morphin	0,015	
Narkotin	> 0,022	Morphin äquivalent
Narkophin	0,0025	" "
Extr. Opii (Merck)	0,003	
Tschandu (Batavia) . . .	0,006	

4. Die biologische Reaktion auf Morphin.

Diese bei Gelegenheit der Toxizitätsbestimmungen von mir gefundene Reaktion ist von großer Empfindlichkeit, mit 0,01 mg reinen Morphins ist sie noch sicher zu erhalten. Ich habe sie für das vorliegende Problem herangezogen, weil sie eine Wirkung mit einer so kleinen Dosis darstellt, daß von hier aus der Analogieschluß auf gleichsinniges Verhalten therapeutischer Dosen besonders zulässig erscheint.

Die Messungen (Dr. Herrmann[2]) ergaben:

1. 0,01 mg Morphin in Form des Narkophins haben eine Wirkung, die nach Intensität und Dauer 0,05 bis 0,1 mg reinen Morphins, also mehr als der 10fachen Menge entspricht.

2. 0,0025 g Morphin als Narkophin sind gleichwertig 0,01 mg reinen Morphins. (0,0025 mg Morphin allein sind mit der biologischen Methode nicht mehr nachweisbar.)

Resultat: Auch mit der Methode der biologischen Reaktion läßt sich eine Wirkungspotenzierung auffinden von sehr annähernd der gleichen Größenordnung wie bei der Toxizitätsbestimmung.

Gesamtresultat.

Das Narkotin potenziert das Morphin hinsichtlich seiner narkotischen (Katzenversuche) und toxischen Wirkung (Mäuseversuche), es verändert sie gleichzeitig qualitativ (Kaninchenversuche), indem es das Atemzentrum weniger narkotisiert, damit die Regulation der Körperventilation mehr intakt erhält. Der praktische Vorzug des Opiums vor dem Morphin dürfte

[1]) N. Simon, Diss. Bern 1903.

[2]) O. Herrmann, l. c. S. 221.

also im wesentlichen in seinem Narkotingehalte zu suchen sein.

Anmerkung. Warum das Atemzentrum durch die Kombination Morphin-Narkotin mehr geschont wird, entzieht sich zunächst der Kenntnis. Es ist aber wohl annehmbar, daß es sich im Prinzip um eine Verteilungsverschiebung handelt, bei der das Großhirn mehr Morphin bekommt. Nach Untersuchungen von Dr. Herrmann[1]) mit der biologischen Methode können die Mengen Morphin, die tatsächlich im Gehirn festgehalten werden und wirken, nur ein ganz kleiner Bruchteil der einverleibten Dosis sein, die im Atemzentrum steckende absolute Menge Morphin kann also einen großen Prozentsatz des Gesamtgehirnmorphins ausmachen.

Die Resultate meiner Versuche stehen in einem gewissen Gegensatze zu denen, die V. Zeelen[2]) im Institute Bürgis in Bern bei der Kombination der verschiedenen Opiumalkaloide (darunter auch Morphin mit Narkotin) fand. In Übereinstimmung mit den von Bürgi formulierten Anschauungen haben sich in den Versuchen der Verfasserin nie Potenzierungen nachweisen lassen. Das war mir natürlich Veranlassung, meine Resultate nachzuprüfen. Meine beiden Mitarbeiter, Dr. Herrmann und Dr. Pott, sowie ich selbst haben dies nach allen Richtungen hin besorgt, zu abweichenden Resultaten kamen wir aber nicht. Indessen braucht das die Zuverlässigkeit der Zeelenschen tatsächlichen Angaben keineswegs zu erschüttern. Zeelen hat als Indicator der Wirkung die Narkose an Kaninchen gewählt, für diesen Bereich die Gültigkeit der Bürgischen Anschauungen zu bezweifeln, habe ich aus meinen Versuchen keine Unterlage und Veranlassung, es dürfte aber nicht zulässig sein, die Zeelenschen Resultate auf alle Wirkungen an allen Tieren (also auch nicht auf die therapeutischen) bei der Kombination Morphin-Narkotin zu übertragen.

Hingegen decken sich meine Ergebnisse mit denen, die Gottlieb und v. d. Eeckhout[3]) mit Opiumtinktur am Frosch fanden. Die Autoren bestätigten experimentell den empirischen Fund der Praxis, daß Opium an Wirkungsstärke mehr ist als sein Morphinäquivalent. Die Erklärung ist nunmehr in den mitgeteilten Untersuchungen gegeben, die zeigten, daß auch ein als wirkungslos geltendes Alkaloid die Morphinwirkung potenzieren kann.

---

[1]) l. c.

[2]) Victorie Zeelen, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 8, 1911.

[3]) Gottlieb und v. d. Eeckhout, Arch. f. experim. Pathol u. Pharmakol. Festschrift für Schmiedeberg.

Das Ammoniak als Umwandlungsprodukt der stickstoffhaltigen Substanzen in höheren Pflanzen.

II. Mitteilung.

Von

Wl. Butkewitsch.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des Instituts für Land- und Forstwirtschaft in Novo-Alexandria.)

(*Eingegangen am 1. Mai 1912.*)

Mit 2 Figuren im Text.

Meine Untersuchungen zur Frage nach der Bildung des Ammoniaks in höheren Pflanzen haben gezeigt, daß in sterilen Lupinenkulturen bei längerer Entwicklung der Pflanzen im Dunkeln größere Mengen von Ammoniak gebildet werden. In meiner diesbezüglichen Arbeit[1]) habe ich die Vermutung geäußert, daß diese Ammoniakansammlung mit der Erschöpfung der Kohlenstoffreserven in den Keimlingen zusammenhängt. Ebendaselbst wurde auf die Möglichkeit einer Abhängigkeit der Ammoniakbildung in den Pflanzen von Oxydationsprozessen hingewiesen.

Die Aufgabe weiterer, im folgenden zu beschreibenden Versuche bestand in der Aufklärung einerseits der Wirkung des Sauerstoffzutrittes, andererseits der Gegenwart von assimilierbaren stickstofffreien organischen Verbindungen auf die Ammoniakbildung in Lupinenkeimlingen.

Die Kulturen wurden in ebensolchen tubulierten Kolben, wie früher, aufgestellt, aber zu der den Kies befeuchtenden Flüssigkeit wurden etwas Gips (0,5 %) und KH_2PO_4 (0,01 %) zugesetzt.

---

[1]) Diese Zeitschr. **16**, 411, 1909.

Das frühere Sterilisationsverfahren mit Formaldehyd mußte verlassen werden, da die mir zur Verfügung stehenden Lupinensamen von Pilzsporen infiziert waren, welche der Wirkung des Formaldehyds in den für die Erhaltung der Keimfähigkeit der Samen gebotenen Grenzen hartnäckig widerstanden; in allen Kulturen, wo die Samen einer 3stündigen Wirkung von 5%igen Formaldehyd ausgesetzt waren, wurde nach einiger Zeit die Entwicklung eines gewissen Pilzes bemerkt. Der Versuch, das Formaldehyd durch Brom zu ersetzen, ergab auch kein befriedigendes Resultat. Nachdem die Samen 1/2 Stunde mit 1% wässeriger Bromlösung[1]) behandelt waren, erwiesen sich die daraus gezüchteten Kulturen von demselben Pilze infiziert.

In der Meinung, daß die Ursache des Mißlingens der erwähnten Sterilisationsmethoden in der ungenügenden Benetzung der Samenoberfläche und der Sporen liegen könnte, ging ich zu einer anderen, auf einer kombinierten Wirkung von konzentrierter Schwefelsäure und 1%iger Bromlösung gegründeten Sterilisationsmethode über.

Ein vorläufiger Versuch zeigte, daß die Lupinensamen eine kurzandauernde Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure gut aushalten, ohne ihre Keimfähigkeit einzubüßen, wenn man 1%ige Bromlösung und konzentrierte Schwefelsäure abwechselnd auf sie einwirken läßt.

Die Sterilisation der Samen wurde nicht in den Kulturgefäßen, wie in den früheren Versuchen, sondern in besonderen Röhren ausgeführt, aus denen die Samen in den Kulturkolben

---

[1]) Vorläufige Versuche zeigten, daß Lupinensamen ihre Keimfähigkeit sogar nach 1stündiger Einwirkung einer 1%igen Bromlösung bewahren. Die Resultate dieses Versuches waren folgende:

Zeit der Einwirkung des 1% Br Minuten	Zahl der gekeimten Samen
5	30
10	29
15	27
30	28
60	25

Die mit der Bromlösung behandelten Samen wurden mit Wasser gewaschen. Die 24 Stunden lang gequollenen Samen wurden zwischen Filtrierpapier in Petrischalen gelegt und 6 Tage im Thermostaten bei 25° gelassen.

durch einen am Kolbenhalse befestigten Gummischlauch übertragen wurden.

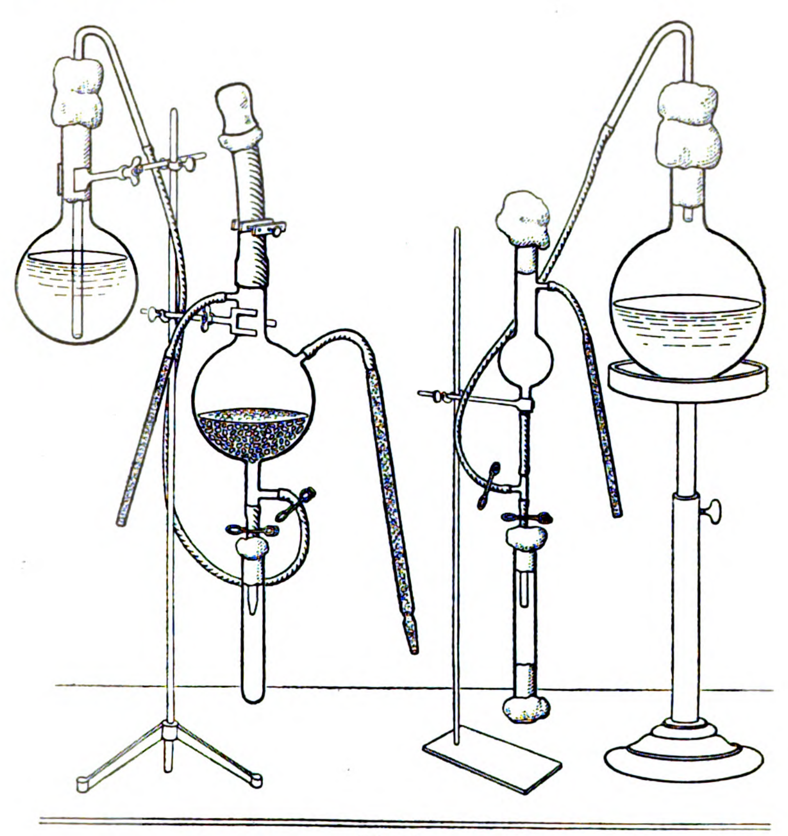


Fig. 1.

Das zum Sterilisieren benutzte Rohr war, wie aus der obenstehenden photographischen Aufnahme (Fig. 1) zu sehen ist, in seinem unteren Teil erweitert und mit drei Ansätzen (zwei unten und einer oben) versehen. Einer von den unteren Ansätzen wurde durch einen mit einem Quetschhahn versehenen Gummischlauch mit einem Kolben verbunden, welcher sterilisiertes, zum Waschen der sterilen Samen bestimmtes Wasser enthielt; der andere Ansatz wurde auch mit einem kurzen mit Quetschhahn versehenen Gummischlauch mit einem Glasröhrchen verbunden, auf welches vermittels eines Wattepropfens ein Glasschutzrohr aufgesetzt war, dessen unteres Ende

ebenfalls mit Watte verschlossen wurde. Dieser Ansatz war zum Abgießen der Flüssigkeiten aus dem Rohr, in welchem die Samen sterilisiert wurden, bestimmt. Durch ihn wurde auch (durch Ansaugen) die konzentrierte Schwefelsäure und die Bromlösung eingeführt. Der obere Seitenansatz war durch einen mit Quetschhahn versehenen Gummischlauch mit einem mit Watte gefüllten Glasrohr verbunden. Dieses Rohr diente zum Ein- und Austritt der Luft beim Ein- und Ausgießen der Flüssigkeiten aus dem Rohr mit dem sterilisierten Samen und auch zu dem Aufsaugen der Schwefelsäure und Bromlösung durch das Endrohr des unteren Ansatzes.

Der ganze Apparat wurde vor dem Gebrauch im Autoklaven bei 2 Atm. steriliert.

Ebenso wurde auch der Kulturapparat sterilisiert. Derselbe bestand aus dem schon früher beschriebenen runden Glaskolben von ca. $^1/_2$ l Inhalt, welcher mit vier Seitenansätzen versehen und mit einer Kiesschicht gefüllt war. Einer von den unteren Ansätzen, welcher zur Leitung der Flüssigkeit in den Kies diente, wurde durch einen Gummischlauch mit dem diese Flüssigkeit enthaltenden Kolben verbunden. Der andere untere Ansatz war durch einen kurzen Gummischlauch mit einem kurzen Glasrohr verbunden, welches mit einem durch Watte abgedichteten Reagensglas bedeckt war. Beide Gummischläuche waren mit Quetschhähnen versehen.

Beide am Oberteil des Kolbens befindlichen, zum Durchsaugen der Luft durch die Kulturen dienenden Ansätze waren durch kurze Gummischläuche mit wattegefüllten Glasröhren verbunden.

Auf den Kolbenhals wurde ein breiter mit Schrauben-Quetschhahn versehener Gummischlauch aufgesetzt, dessen oberes Ende mit Watte verstopft und mit einer Glaskappe bedeckt wurde.

Nachdem die auf diese Weise zusammengesetzten Apparate sterilisiert sind, werden die zuerst mit Soda und Alkohol gewaschenen Samen mit der 1 $^0/_0$igen Bromlösung in das zum Sterilisieren bestimmte Rohr durch seine obere Öffnung eingeführt. Dann wird das obere Ende des auf den Hals des Kulturkolbens aufgesetzten Gummischlauches rasch von der Glasklappe und dem Wattestopfen befreit und auf das offene Ende

des die Samen enthaltenden Sterilisierrohres aufgesetzt. Diese Lage des Apparates ist in Fig. 2 wiedergegeben.

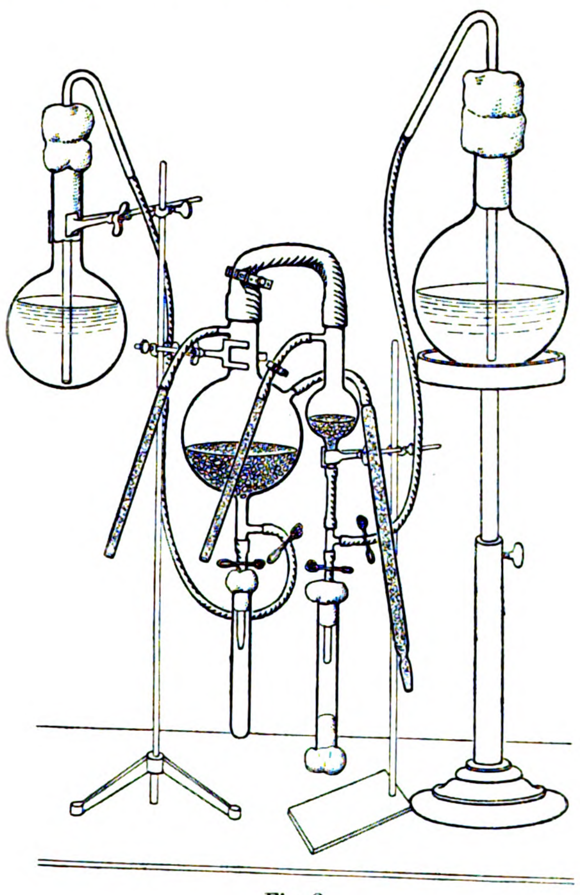


Fig. 2.

Die mit dem Samen in das Rohr eingeführte Bromlösung wurde 15 bis 20 Minuten darin gelassen, dann durch den unteren Tubulus abgeleitet. Die Samen werden im Rohre aus einem damit verbundenen Kolben mit Wasser gewaschen, das Wasser abgegossen, und durch denselben Tubulus konzentrierte Schwefelsäure eingesaugt. Nach 1 bis 2 Minuten wird die Schwefelsäure abgegossen, die Samen mit Wasser gewaschen und wieder eine 1%ige Bromlösung auf demselben Wege wie die H_2SO_4 in das Rohr eingeführt. Nach 10 Minuten wird diese Lösung abgegossen,

die Samen werden mit Wasser sorgfältig gewaschen und in den Kulturkolben (nach Aufschrauben des den Gummischlauch verschließenden Quetschhahns) durch den Gummischlauch übertragen. Darauf wird der Quetschhahn wieder fest zugeschraubt und das obere Ende des Gummischlauchs über dem Quetschhahn mit der Schere abgeschnitten. Dann wird aus dem die Kulturflüssigkeit enthaltenden Kolben so viel von dieser Flüssigkeit zum Kies zugeleitet, daß die Samen davon bedeckt werden. Durch Umschütteln werden die Samen möglichst gleichmäßig auf der Kiesoberfläche verteilt.

Nach 3 bis 4 Tagen, wenn die Samen aufgequollen sind und zu keimen beginnen, wird die überschüssige Flüssigkeitsschicht vom Kies durch den unteren Tubulus abgeleitet und die Kolben so lange in Ruhe gelassen, bis die Keimlinge die zum Versuch notwendige Größe erreichen. Ein besonderes Durchsaugen von Luft durch die Kulturkolben war in diesem Stadium nicht nötig; der durch die mit Watte gefüllten Röhren stattfindende Gaswechsel genügte vollkommen für eine erfolgreiche Entwicklung der Pflanzen. Auf diese Weise wurden einige vollkommen sterile Kulturen[1]) erhalten, welche zu den Versuchen verwandt wurden. Die Sterilität der Kulturen, auf welche schon aus dem Aussehen geschlossen werden konnte, wurde nach Abschluß des Versuches immer durch mikroskopische Beobachtung und Impfen auf Peptongelatine geprüft.

Die zum Versuch benutzten Samenportionen wurden immer so ausgesucht, daß einem bestimmten Gewicht dieselbe Samenmenge entsprach, nämlich 45 Stück = 6 g.

In einer Samenportion von demselben relativen Samengewicht wurde vorher der Gesamt-N bestimmt.

In 15 Samen, welche 2 g wogen, wurde 0,137836 N gefunden. Der Stickstoff wurde nach Kjeldahl bestimmt. Bei dieser, wie auch bei allen folgenden Bestimmungen wurde zur Absorption des abdestillierten Ammoniaks eine Schwefelsäurelösung benutzt, welche 0,000 7616 H_2SO_4 in 1 ccm enthielt (= 0,0002176 N). Titriert wurde mit Ammoniaklösung.

---

[1]) Hier muß bemerkt werden, daß auch die oben beschriebene Sterilisationsmethode mit Schwefelsäure und Brom nicht immer zum Ziele führte. Von den nach dieser Methode aufgestellten Kulturen erwiesen sich zwei als infiziert, die eine mit Bakterien, die andere mit Pilzen.

Zur Neutralisation von 10 ccm H_2SO_4 (Methylorange) wurden 32,7 ccm der Ammoniaklösung benutzt. 1 ccm der letzteren enthielt 0,00068 g N.

Zur Stickstoffbestimmung in den Lupinensamen wurden 15 Samen (2 g) genommen.

H_2SO_4 genommen	NH_3 beim Titrieren benutzt	N gefunden
100 ccm	9,3 ccm	0,137836 g

Der Stickstoffgehalt in 100 Samen wurde also zu 0,918907 g oder in Prozenten des Samengewichtes zu 6,89% bestimmt.

Versuche über den Einfluß des Sauerstoffes.

Der erste Versuch wurde zur Aufklärung der Wirkung des Sauerstoffes auf die Ammoniakbildung in den Keimlingen angestellt.

Zur Kultur wurden 50 Samen der gelben Lupine im Gewicht von 6,7 g genommen.

Die bei gewöhnlicher Temperatur (ca. 20°) entwickelte 3wöchige Kultur wurde durch Abschließen der Quetschhähne des Luft-Sauerstoffes beraubt und in den Thermostat bei 25 bis 27° gestellt, wo sie 5 Wochen blieb. Schon nach einigen Tagen, nachdem der Sauerstoffzutritt beseitigt war, fangen die Hypokotylen an, ein glasiges Aussehen zu erhalten, dann verlieren sie ihre Turgescenz und fallen um. Am Ende des Versuches waren alle Keimlinge tot, sahen welk aus und waren etwas bräunlich gefärbt. Die Kultur wies einen deutlichen Alkoholgeruch auf; der Keimlingsaft und die den Kies ausfüllende Flüssigkeit reagierten sauer.

Die aus dem Kolben genommenen Keimlinge wurden mit etwas Sand im Mörser zerrieben und mit der Flüssigkeit des Kulturkolbens und den Waschwassern in einen Meßkolben von 300 ccm übertragen.

Dann wurde der Kolben mit seinem Inhalt 10 Minuten im kochenden Dampfsterilisierapparat gelassen, nach dem Abkühlen auf 300 ccm mit Wasser nachgefüllt und nach einiger Zeit die Flüssigkeit abfiltriert.

In dieser Flüssigkeit wurde der Ammoniak- und Amid-Stickstoff bestimmt.

Das Ammoniak wurde hier und in allen übrigen Fällen durch Destillieren mit Magnesia unter vermindertem Druck (20 bis 25 mm) bestimmt.

	Zur Analyse genomm. Filtratmenge ccm	Schwefelsäure genommen ccm	Ammoniak zum Titrieren verwandt ccm	N gefunden	
				in der analysierten Probe g	in der ganzen Flüssigkeit g
Ammoniak-N	100	20	37,0	0,003672	0,001016
Amid-N+Ammoniak-N .	100	50	75,5	0,020740	0,062220

Wenn wir auf Grund der erhaltenen Zahlen auf 100 Keimlinge oder in Prozenten der Gesamtstickstoffmenge in den Keimlingen umrechnen, so erhalten wir:

	Auf 100 Keimlinge mg	In $^0/_0$ der Gesamtstickstoffmenge
Ammoniak-N . .	22,032	2,40
Amid-N (ohne Ammoniak-N) . .	102,408	11,14

Aus den angeführten Zahlen folgt, daß die Ammoniakmenge der Versuchspflanzen die in normalen Lupinenkeimlingen gewöhnlich vorhandene Menge nur sehr wenig übertrifft.

Für den nächsten Versuch wurden zwei Parallelkulturen derselben Lupinen genommen, welche 3 Wochen im Thermostaten bei 23 bis 25° gewachsen waren. Für jede Kultur wurden 40 Samen (5,3 g) genommen. Eine Kultur (A) wurde auf oben beschriebene Weise unter Luftabschluß aufgestellt, durch die andere (B) wurde Luft durchgesaugt, welche zuerst durch Waschflaschen mit Ätzkali und Schwefelsäure geleitet wurde. Im Laufe des Versuches befanden sich beide Kolben im Thermostaten bei 24 bis 26°.

Die durch die Kultur B durchgesaugte Luft wurde zur Bestimmung der von den Pflanzen ausgeschiedenen CO_2 durch eine mit Barytwasser gefüllte Pettenkofersche Röhre geleitet und die absorbierte CO_2 durch Titrieren bestimmt.

Die erste Barytröhre wurde am 20. II. 1911 um $3^1/_2$ Uhr nachmittags eingeschaltet, nachdem vorher 24 Stunden Luft durch die Kultur gesaugt worden war. Das Durchleiten der Luft mit fortlaufender CO_2-Bestimmung dauerte 32 Tage. — So lange wurde auch die andere, unter Luftabschluß aufgestellte Kultur im Thermostaten gelassen.

Die Bestimmung der CO_2 ergab folgende Resultate:

Pettenkofer-Röhren ausgewechselt:	Zeit in Stunden	CO_2 in mg		
		Gesamt-menge	pro 1 Std.	pro 100 Keimlinge in 1 Std.
1. 21. II. 4 1/2 nachm.	25	25,338	1,013	2,53
2. 23. „ 3 1/2 „	47	35,638	0,758	1,90
3. 25. „ 3 1/2 „	48	32,136	0,670	1,67
4. 27. „ 1 „	45,5	26,574	0,584	1,46
5. 1. III. 4 1/2 „	51,5	28,222	0,548	1,37
6. 3. „ 3 1/2 „	47	24,308	0,517	1,29
7. 5. „ 3 1/2 „	48	22,454	0,467	1,17
8. 7. „ 4 „	48,5	20,394	0,420	1,05
9. 9. „ 3 1/2 „	47,5	14,42	0,303	0,76
10. 11. „ 3 1/2 „	48	12,154	0,232	0,58
11. 13. „ 3 1/2 „	48	8,858	0,184	0,46
12. 15. „ 3 1/2 „	48	5,974	0,124	0,31
13. 22. „ 7 1/2 „	172	12,978	0,069	0,17
14. 23. „ 7 1/2 „	24	1,03	0,042	0,11
15. 24. „ 10 1/2 „	27	1,03	0,038	0,09

Am 24. III. wurde der Versuch abgeschlossen und die Kulturen analysiert. Wie aus der obenstehenden Tabelle zu ersehen ist, war die CO_2-Ausscheidung am Ende des Versuches sehr schwach.

In der unter Luftabschluß aufgestellten Kultur fingen die Oberteile der Hypokotyle schon am 4. Tage an, ein glasiges Aussehen zu erhalten; während der folgenden Tage breitet sich das glasige Aussehen auf alle Keimlinge aus; sie verlieren ihre Turgescenz, werden schlaff, fallen um und scheinen nach einer Woche abgestorben zu sein.

In den Luftkulturen wurde die Glasigkeit der oberen Teile der Hypokotyle bedeutend später, nämlich erst nach 3 Wochen vom Beginn des Versuches an, bemerkt. Am Ende des Versuches waren die Keimlinge in dieser Kultur beinahe durchweg glasig, viele schlaff und gebogen. Die Kulturflüssigkeit war durchsichtig, schwach gelblich und wies eine deutlich alkalische Reaktion auf. Dieselbe Reaktion wiesen auch die Keimlinge auf.

In der unter Luftabschluß gehaltenen Kultur war die Flüssigkeit ebenfalls durchsichtig und gelblich, sie hatte aber einen deutlichen Alkoholgeruch und eine schwachsaure Reaktion. Dieselbe saure Reaktion wiesen auch die Keimlinge auf.

In den zur Analyse genommenen Kulturen wurde der Ammoniak- und Amidstickstoff und der Gesamt-N im Extrakt bestimmt. Der Extrakt wurde in beiden Fällen auf 300 ccm

gebracht. Die Analyse wurde auf dieselbe Weise wie in den früheren Versuchen ausgeführt.[1])

	Analysierte Extraktmenge ccm	Schwefelsäure genommen ccm	NH_3 verbraucht ccm	N gefunden in der analys. Portion g	N gefunden in der ganzen Kultur g
Kultur A					
Gesamt-N im Extrakt .	25	30	22,6	0,027880	0,836400
Ammoniak-N	100	20	38,6	0,007752	0,019380
Amid-N + Ammoniak-N	100	30	26,2	0,076296	0,190740
Kultur B					
Gesamt-N im Extrakt .	25	30	28,0	0,024208	0,390496
Ammoniak-N . . . . {	100	30	30,3	0,022644	0,067932
	50	20	25,6	0,011424	0,068544
Amid-N + Ammoniak-N	50	30	33,2	0,020672	0,124032

Wenn wir auf Grund der erhaltenen Zahlen auf 100 Keimlinge umrechnen oder das Resultat in Prozenten des Gesamtstickstoffs der Keimlinge ausdrücken, so erhalten wir:

	Auf 100 Keimlinge Kultur A mg	Auf 100 Keimlinge Kultur B mg	In Prozenten des Gesamt-N Kultur A	In Prozenten des Gesamt-N Kultur B
Gesamt-N im Extrakt .	836,40	726,24	91,02	79,03
Ammoniak-N	19,38	170,60	2,11	18,57
Amid-N + Ammoniak-N .	190,74	310,08	20,76	33,74
Amid-N (ohne Ammon.-N)	171,36	139,48	18,65	15,17

Aus den angeführten Zahlen sieht man, daß nur in der durchlüfteten Kultur sich eine größere Ammoniakmenge ansammelt, in der unter Luftabschluß gehaltenen Kultur dagegen der Ammoniakgehalt von dem in normalen Keimlingen gewöhnlich beobachteten wenig abweicht. Was die Herkunft des Ammoniaks betrifft, so ersieht man aus dem Vergleich der Zahlen für beide Kulturen, daß wenigstens ein Teil desselben auf Kosten der Amidgruppe entsteht: in der Kultur A ist mehr Amid-N als in Kultur B enthalten. Die Teilnahme des Aminosäuren-N an der Bildung des Ammoniaks ist wahrscheinlich, kann aber nicht als vollkommen erwiesen gelten.

Was die Eiweißstoffe anbetrifft, so finden wir ihren Gehalt, wenn wir als Eiweiß-N den nach Ausschluß des Extrakt-N übrigbleibenden Stickstoff der Keimlinge annehmen, in den sauerstoff-

[1]) Die Erwärmung der zerstoßenen Keimlinge bei der Analyse der Kultur B erfolgte nach Ansäuern der Flüssigkeit mit Essigsäure.

freien Kulturen bedeutend niedriger als in den Luftkulturen. Das erklärt sich zweifellos (wenigstens zum Teil) durch die in dieser Kultur stattfindenden Eiweiß-Neubildungsprozesse, welche in der ersten Kultur durch den Sauerstoffabschluß gehemmt sind.

Versuche über den Einfluß der Glucose.

Der nächste Versuch sollte den Einfluß der künstlichen Ernährung der Keimlinge mit Glucose auf die durch die früheren Versuche festgestellte Ammoniakbildung in den Keimlingen aufklären. Zu diesem Zwecke wurden zwei sterile Lupinenkulturen ganz ebenso wie in den früheren Versuchen aufgestellt, aber einer von den beiden Kulturkolben nicht mit einem sondern mit zwei Kolben verbunden, von denen der erste zur Aufnahme des Wassers, der zweite von 5 % Glucose diente.

Für beide Kulturen wurden je 45 Lupinensamen (6 g) genommen. Beide Kulturen wurden zuerst während 5 Wochen im Thermostat bei 23 bis 26° gehalten.

Dann wurde eine von den Kulturen (a) zur Analyse genommen, die andere in einen Thermostat von 23 bis 26° gesetzt und Luft durchgeleitet. Die Luft strich zuerst durch Waschflaschen mit Ätzkali und Schwefelsäure. Nach einigen Stunden wurde eine Pettenkofersche Röhre mit Barytlösung zur Bestimmung der ausgeschiedenen CO_2 eingeschaltet. Die Bestimmung der CO_2 wurde am 9. III. 1911 um 4 Uhr nachm. begonnen und bis zum Ende des Versuchs fortgesetzt. Die Resultate dieser Bestimmung waren folgende:

Wechsel der Pettenkofer-Röhren	Zeit in Stunden	CO_2 in mg		
		Gesamtmenge	pro 1 Std.	auf 100 Keimlinge in 1 Std.
1. 10. III. 4h nachm.	24	25,338	1,055	2,41
2. 12. „ 10h vorm.	42	33,166	0,789	1,75
3. 14. „ 10h „	48	32,016	0,667	1,48
4. 16. „ 11h „	49	31,509	0,643	1,43
5. 17. „ 11h „	24	15,038	0,626	1,39
Die Flüssigkeit aus dem Kulturkolben wurde zur Hälfte abgeleitet und durch 5%ige Glucoselösung ersetzt.				
6. 18. III. 11h vorm.	24	15,244	0,635	1,41
7. 20. „ 1h nachm.	50	33,990	0,680	1,51
8. 22. „ 1h „	48	31,930	0,665	1,48
Die ganze Flüssigkeit des Kulturkolbens abgeleitet und durch 5%ige Glucoselösung ersetzt.				
9. 24. III. 1h nachm.	48	32,342	0,694	1,54
10. 26. „ 1h „	48	31,724	0,660	1,47
11. 28. „ 5h „	52	36,874	0,709	1,57

Wie aus den angeführten Zahlen zu ersehen ist, ist nach dem Einführen des Zuckers ein gewisses Steigen der CO_2-Ausscheidung zu bemerken, welche dann bis zum Ende des Versuches beinahe konstant bleibt.

Schon beim zweiten Wechsel der Zuckerlösung, d. h. eine Woche vor Abschluß des Versuches, wurde an einigen Keimlingen ein glasiges Aussehen im oberen Teile des Hypokotyls bemerkt.

Am Ende des Versuches haben fast alle Keimlinge in ihrem Oberteil (gleich unter den Kotyledonen) ein glasiges Aussehen und eine deutlich alkalische Reaktion. Der untere Teil sieht ganz normal aus und hat eine saure Reaktion. Alle Keimlinge sind turgescent und stehen aufrecht. Nach Abschluß der CO_2-Bestimmung (am 28. III) wurde die Kultur der Analyse unterworfen. Die Analysenergebnisse dieser und der vorher analysierten Kontrollkultur waren folgende:

	Extrakt-menge ccm	Schwefel-menge ccm	Ammo-niak zum Titrieren ccm	N in der Portion g	N in der ganzen Kultur g
Kultur a (Kontr.)					
Ammoniak-N	100	20	39,6	0,001904	0,005712
Amid-N + Ammoniak-N	50	20	17,6	0,016864	0,101184
Kultur b					
Gesamt-N im Extrakt .	25	30	23,3	0,027404	0,328843
Ammoniak-N	100	30	44,6	0,012920	0,038760
Amid-N + Ammoniak-N	50	30	30,7	0,022372	0,134232

Wenn wir diese Analysenergebnisse auf 100 Keimlinge umrechnen oder die Zahlen in Prozenten des Gesamt-N der Keimlinge ausdrücken, so erhalten wir:

	Auf 100 Keimlinge Kultur a mg	Auf 100 Keimlinge Kultur b mg	In Proz. des Gesamt-N Kultur a	In Proz. des Gesamt-N Kultur b
Gesamt-N im Extrakt .	—	730,77	—	79,42
Ammoniak-N	12,69	86,13	1,38	9,37
Amid-N + Ammoniak-N .	224,85	298,29	24,48	32,47
Amid-N (ohne Ammon.-N)	212,16	212,16	23,10	23,10

Aus den angeführten Zahlen folgt, daß auch auf der Kultur mit Glucose (b) sich eine gewisse Ammoniakmenge ansammelte,

doch war sie geringer als in der beinahe gleichaltrigen Kultur B ohne Glucose. Stellen wir die Zahlen für diese beiden Kulturen zusammen:

	Kultur B (ohne Glucose)	Kultur b (mit Glucose)
Gesamt-N im Extrakt	79,0 %	79,42%
Ammoniak-N	18,57 „	9,37 „
Amid-N	15,17 „	23,10 „

Die Wirkung der Glucose äußert sich also in einer Beschränkung der Ammoniakbildung. Noch stärker tritt diese Wirkung hervor, wenn man berücksichtigt, daß das Ammoniak sich am oberen, weiter von der Glucoselösung entfernten Teile der Keimlinge ansammelt. Die in die Zuckerlösung tauchenden Wurzeln und die anstoßenden unteren Partien der Hypokotyle bewahrten, wie schon erwähnt, bis zum Ende des Versuches ihr vollkommen normales Aussehen und normal saure Reaktion. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die von den Keimlingen aufgenommene Glucose in ihrem unteren Teile verbraucht wurde und die Oberteile, in denen die Ammoniakbildung nachgewiesen wurde, gar nicht erreichte.

Beim Vergleich der oben angeführten Zahlen für die Kontrollkultur a und die Kultur b finden wir in beiden beinahe dieselben Amidstickstoffmengen. Daraus kann man natürlich nicht schließen, daß dieser Stickstoff an der Ammoniakbildung nicht beteiligt war. Im Gegenteil mußte in der Kultur b die Bildung des Asparagins anhalten, und wenn wir darin kein Anwachsen des Amidstickstoffs finden, so kann das nur dadurch erklärt werden, daß die Amidgruppen des Asparagins das Material für die Ammoniakbildung lieferten.

Die Resultate der oben beschriebenen Versuche führen also zu folgenden Schlüssen:

1. In den Keimlingen, welche sich längere Zeit auf Kosten der in den Samen gespeicherten Reservestoffe entwickelt haben, findet beim Erschöpfen dieser Stoffe eine Ansammlung von Ammoniak statt, dessen Stickstoff in alten absterbenden Lupinenkeimlingen beinahe $^1/_5$ ihres Gesamtstickstoffs beträgt. Das Material für diese Ammoniakbildung liefert wenigstens zum Teil die Amidgruppe des Asparagins.

2. Die Ansammlung des Ammoniaks bei den obenerwähnten Bedingungen ist eine Folge der Erschöpfung der Kohlenstoffreserven. Die künstliche Ernährung der Keimlinge mit Traubenzucker schränkt die Ammoniakbildung ein, und letzteres wird in diesem Falle in den oberen, von der Lösung weiter entfernten Teilen gebildet, d. h. dort, wohin der Zucker wahrscheinlich gar nicht gelangt.

3. Die Ansammlung des Ammoniaks findet in den Keimlingen nur bei Luftzutritt statt. In den sauerstofffreien Kulturen konnte selbst nach sehr langem Verweilen im Thermostat bei 24 bis 26° keine nennenswerte Ammoniakspeicherung festgestellt werden. Sein Gehalt in solchen Kulturen wich nur wenig von dem gewöhnlichen Ammoniakgehalt der normal entwickelten Lupinenkeimlinge ab.

In den angeführten Ergebnissen findet sich eine Bestätigung der in der vorhergehenden Mitteilung ausgesprochenen Vermutung, daß die in meinen Versuchen festgestellte Ammoniakbildung nicht die Folge einer einfachen, durch ein desamidierendes Enzym hervorgerufenen Hydratation, sondern das Resultat eines komplizierteren, unter Mitwirkung von Oxydationsvorgängen verlaufenden Prozesses ist. Dabei muß man aber berücksichtigen, daß die diese Vermutung scheinbar bestätigenden Resultate der bei Sauerstoffabschluß ausgeführten Versuche, abgesehen vom Fehlen eines desamidierenden Enzyms, auch durch andere Ursachen bedingt werden können. Es ist z. B. möglich, daß beim Sauerstoffabschluß der Stoffwechsel in den Keimlingen eine solche Richtung annimmt, bei welcher Bedingungen geschaffen werden, die das desamidierende Enzym in den Keimlingen in seiner Tätigkeit hemmen.

Zur Aufklärung der Frage nach der Anwesenheit eines desamidierenden Enzyms in Keimlingen wurden Versuche mit ihrem Preßsaft unternommen.

Die Resultate dieser Versuche sollen den Inhalt einer besonderen Mitteilung bilden.

Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien.

Von

Walther Löb und S. Gutmann.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rud. Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. Mai 1912.)

Obgleich die Ovarialsubstanz bekanntlich zu therapeutischen Zwecken in mannigfacher Weise verwendet wird, liegen noch keine Versuche über die in ihr enthaltenen Enzyme vor, mit Ausnahme einer Beobachtung von A. Koblanck und dem einen von uns[1]) über das Vorkommen eines peptidspaltenden Enzyms in den Kaninchen- und Schweineovarien und einer gelegentlichen Beobachtung von Abderhalden und Steinbeck[2]) über die Abspaltung von Tyrosin aus Seidenpepton durch Ovarialgewebe. Wir unternahmen es deshalb, die Untersuchung der in den Ovarien wirksamen Enzyme in weiterem Umfange aufzunehmen, um so mehr, als uns durch das Entgegenkommen des Leiters der Pankreatin-Abteilung der chemischen Fabrik Rhenania, Herrn Dr. Weber in Hamburg, geeignetes Material in genügender Menge zur Verfügung gestellt wurde.

Aus den Beobachtungen, die im Laufe der letzten Jahre in der chemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses gemacht worden sind, und sich auf die verschiedensten Organe erstrecken, ergibt sich, daß eine Reihe von Enzymen in allen Organen unabhängig von ihren spezifischen Funktionen wiederkehren, während andere nur einem oder mehreren speziellen Organen zugeordnet zu sein scheinen. Man wird hierdurch zu dem Schlusse geführt, daß die lebende Tierzelle für ihren eigenen

[1]) Diese Zeitschr. **29**, 102, 1910.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **68**, 316, 1910.

Energie- und Stoffbetrieb bestimmter Enzyme bedarf, die daher als allgemeine Zellenenzyme zu betrachten sind. Zu ihnen gehören die Katalasen, die Diastasen und eiweißspaltende Enzyme. Andere Enzyme, wie die Peroxydasen — sofern man dieselben auf Grund ihrer Wirkungsweise den Enzymen zuordnen will, obgleich sie sicher eine von ihnen verschiedene Klasse von Katalysatoren vorstellen —, Lipasen, desamidierende und invertierende Enzyme, sowie andere scheinen hingegen als spezielle Organenzyme aufgefaßt werden zu müssen und mit den verschiedenen Funktionen der Organe in engem Zusammenhang zu stehen. Eine strenge Trennung in allgemeine Zell- und spezifische Organenzyme ist auf Grund des bisherigen Versuchsmaterials noch nicht möglich, da vielleicht auch die quantitative Verschiedenheit der allgemeinen Zellenzyme bei ihrer Beteiligung an den Organfunktionen eine Rolle spielen mag. Solche quantitativen Bestimmungen aber sind in vergleichbarer Weise noch nicht ausgeführt. Die im experimentellen Teile mitgeteilten quantitativen Bestimmungen einiger Enzyme können nur als vorläufiges Material für diese Aufgabe betrachtet werden, deren Erledigung erst durch die Vervollkommnung der Isolierung von Enzymen zu erwarten ist. Ebenso bieten die Versuche, die Enzymwirkungen auf chemischem Wege voneinander zu trennen, erst einen Anfang in dieser Richtung, der zu einem verwertbaren Resultat bisher noch nicht geführt hat. Alle diese Gründe müssen uns bestimmen, von einer theoretischen und physiologisch-chemischen Deutung der Befunde zunächst noch Abstand zu nehmen. Wir geben deshalb das gesamte experimentelle Material, ohne weitere Schlüsse auf einen Zusammenhang zwischen den Enzymen der Ovarien und ihren Funktionen und therapeutischen Effekten zu ziehen.

Experimenteller Teil.

1. Das Versuchsmaterial.

Das uns zur Verfügung stehende Material war aus blutfrei gewaschenen Schweineovarien hergestellt. Die Organe wurden nach der Entblutung zerkleinert, bei niedriger Temperatur getrocknet, mit Benzin bei niedriger Temperatur entfettet und an der Luft abermals getrocknet. Durch weitere Behandlung in der Kugelmühle resultierte ein grobkörniges, gelb-weißes

Pulver, von dem mehrere Kilo für unsere Versuche verarbeitet wurden. Sowohl der wässerige, wie der alkoholische Auszug des Pulvers erwies sich bei der spektral-analytischen Prüfung als hämoglobinfrei.

2. Katalasen und Peroxydasen.

Das Ovarialpulver zersetzt eine Wasserstoffperoxydlösung schnell unter starker Schaumbildung, es enthält also reichlich Katalase. Dieselbe wird in dem trocknen Pulver selbst durch 24 stündiges Erwärmen auf 100° nicht unwirksam. Jedoch macht sich eine Abschwächung der katalytischen Kraft deutlich bemerkbar.

Peroxydasen fehlen vollständig, während, wie bereits mitgeteilt, die Milz[1]) und die Placenta[2]) Peroxydasen enthalten.

3. Kohlenhydrate abbauende Enzyme.

a) Diastasen.

Die Gegenwart einer Stärke verzuckernden Diastase ließ sich sowohl im trocknen Pulver, wie in seinem wässerigen Auszuge nachweisen, jedoch gelang es auch durch einstündiges Schütteln von 1 g Pulver mit 50 ccm Wasser nicht, die Diastase völlig dem Pulver zu entziehen. Letzteres behielt dauernd noch diastatische Wirkung. Da durch die Extraktion mit Wasser (stets unter Zusatz von 1 °/₀ Toluol) viele biuretgebenden Stoffe in das Wasser übergehen, so wurde versucht, durch fraktionierte Fällung mit kolloidaler Eisenoxydlösung (5 °/₀ Fe_2O_3) diese Stoffe von der Diastase zu trennen. Dabei zeigte sich, daß bei Zusatz steigender Mengen der Eisenlösung die Filtrate zunächst an diastatischer Kraft zunehmen, so daß es den Anschein hat, als ob gewisse Hemmungskörper durch das kolloidale Eisenoxyd mit ausgefällt würden; jedoch macht sich diese Erscheinung nur bis zu einem gewissen Zusatz der Eisenlösung bemerkbar, bei dem das Filtrat aber bereits keine Biuretreaktion zeigt. Erhöht man den Zusatz der Eisenlösung weiter, so verschwindet die diastatische Wirkung des Filtrates. Zu bemerken ist noch, daß die Diastase durch Kochen ihrer Lösung völlig zerstört wird.

---

[1]) Tanaka, diese Zeitschr. 37, 249, 1911.
[2]) Löb und Higuchi, diese Zeitschr. 22, 316, 1909.

Wir lassen die Resultate tabellarisch folgen. Soweit die in den früheren Arbeiten[1]) benutzten Vorschriften angewandt wurden, haben wir auf eine nochmalige genaue Beschreibung der Versuchstechnik verzichtet.

Tabelle I.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Polarisationswerte in 9,47 cm langem Rohr	
1	0,5 %ige Stärkelösung . . . 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	0,48°	0,50°
2	Aq. dest. . . . . 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	0,10°	0,11°
3	0,5 %ige Stärkelösung . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,25°	0,25°

Zur Polarisation wurden 15 ccm der filtrierten Reaktionslösungen in einem 25-ccm-Meßkolben mit 5 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung und einigen Tropfen einer 10%igen Magnesiumsulfatlösung versetzt, auf 25 ccm aufgefüllt, filtriert und in einem 9,47 cm langen Rohre, das, für Traubenzucker bestimmt, den Prozentgehalt als den verdoppelten Wert des abgelesenen Drehungswinkels angibt, polarisiert.

Tabelle II.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O g	Osazonbildung	Zuckergehalt nach Bang bestimmt
1	0,5 %ige Stärkelösung . . 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	0,1090 0,0963	reichlich	19,0 mg
2	Aq. dest. . . . . 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	0,0180 0,0142	nichts	1,4 mg
3	0,5 %ige Stärkelösung . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,0132 0,0141	nichts	2,3 mg

Die in Tabelle II mitgeteilten Werte für Kupferoxydul (40 ccm der Reaktionslösung mit 20 ccm Eisenlösung, 10 ccm Magnesiumsulfatlösung und Wasser auf 100 ccm gebracht; 25 ccm des Filtrates zur Kupferoxydulbestimmung) waren genau nach der von Löb und Higuchi mitgeteilten Vorschrift er-

[1]) Löb und Higuchi, Tanaka, diese Zeitschr. 22, 316, 1910; 37, 249, 1911.

mittelt worden und beziehen sich auf zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen. Ebenso entsprach die Ausführung der qualitativen Osazonprobe der an der gleichen Stelle angegebenen Vorschrift. Zur weiteren Kontrolle wurde auch in einigen besonderen Versuchsreihen der Zuckergehalt nach der Bangschen Methode ermittelt. Hierzu wurden 40 ccm des Filtrates der Mischung unter Zusatz von Eisenlösung auf 100 ccm gebracht und nach nochmaliger Filtration je 10 ccm zur Titration verwandt. Die angegebenen Werte beziehen sich auf diese Titration ohne weitere Umrechnung.

Bei der bisher stets beobachteten Identität der Diastasewirkung auf Stärke und Glykogen erscheint es natürlich, daß auch in diesem Falle ein Unterschied gegenüber den beiden Kohlenhydraten nicht auftrat. Die Werte der Glykogenuntersuchung sind in der folgenden Tabelle III niedergelegt und bedürfen keines weiteren Kommentars.

Tabelle III.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O g	Osazonbildung	Zuckergehalt nach Bang bestimmt
1	Glykogen . . . . 0,5 ccm Pulver . . . . 0,5 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,0536 0,0463	reichlich	7,1 mg
2	Pulver . . . . 0,5 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,0120 0,0172	nichts	1,5 mg
3	Glykogen . . . . 0,2 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,0092 0,0105	nichts	1,8 mg

Die zur Analyse verwandten Mengen waren die gleichen wie bei den Stärkeversuchen.

Für die Versuche einer fraktionierten Enteiweißung der Fermentlösung mittels kolloidaler Eisenlösung wurde in folgender Weise verfahren. 10 g des Ovarialpulvers schüttelten wir mit 150 ccm Wasser und 1,5 ccm Toluol unter Zusatz von Glasperlen 6 Stunden lang bei Zimmertemperatur auf der Schüttelmaschine. Da eine Filtration der entstehenden Mischung große Schwierigkeiten verursacht, wurde zunächst die gesamte Flüssigkeit auf der elektrischen Zentrifuge $^1/_2$ Stunde zentri-

fugiert und die von dem Bodensatz abgegossene trübe Flüssigkeit filtriert. Das Filtrat ist noch trübe und stark eiweißhaltig. Bei Zusatz von kolloidaler Eisenlösung — es wurde eine solche mit 5 % Eisenoxyd verwandt — tritt mit steigender Menge eine wachsende Aufklärung des Filtrates bis zur Wasserklarheit ein, wobei die Biuretreaktion bald völlig verschwindet, die diastatische Wirkung aber erhalten bleibt. Über diese Verhältnisse orientiert die Tabelle IV.

Tabelle IV.

Zusatz von Eisenlösung zu 10 ccm der 6 Stunden geschüttelten und filtrierten Mischung	1 ccm	1,5 ccm	2 ccm	2,5 ccm	3 ccm	3,5 ccm	4 ccm	4,5 ccm	5 ccm	10 ccm
Biuretreaktion nach der Eisenbehandlung und Filtration	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
Hydrolyse von 5 ccm 1 %iger Stärke in 24 Stunden durch 2 ccm Filtrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Zusatz von Eisenlösung zu 10 ccm nach 1 stündiger Schüttelung	1 ccm	1,5 ccm	2 ccm	2,5 ccm	3 ccm	3,5 ccm	4 ccm	4,5 ccm	5 ccm	10 ccm
Biuretreaktion nach der Eisenbehandlung und Filtration	+ trüb	+ trüb	+ trüb	+ trüb	+ trüb	+ trüb	— klar	— klar	— klar	— kla
Hydrolyse von 5 ccm 1 %iger Stärke in 24 Stunden durch 2 ccm Filtrat	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Wurden 20 ccm des Filtrates der 6 Stunden mit Glasperlen geschüttelten und zentrifugierten Flüssigkeit mit 6 ccm Eisenlösung versetzt, so genügte noch 1 ccm des resultierenden klaren Filtrates, um 5 ccm einer 1 %igen Stärkelösung in 2 Stunden vollständig zu verzuckern, während 1 ccm des ursprünglichen Filtrates — vor der Enteiweißung mit kolloidaler Eisenlösung — innerhalb dieser Zeit eine Verzuckerung der Stärke nicht herbeiführte. Auch bei der nur 1 Stunde geschüttelten Mischung erwies sich das teilweise enteiweißte Filtrat diastatisch wirksamer, als das ursprüngliche, nicht mit Eisen behandelte.

Für die diastatische Wirksamkeit der nach der Enteiweißung mit Eisenlösung resultierenden Flüssigkeit scheinen mehrere

Momente von Bedeutung zu sein, deren genauere Verfolgung über die Zwecke der vorliegenden Untersuchung hinausging und die deshalb nur kurz erwähnt werden sollen. Es zeigte sich zunächst, daß die Dauer der Schüttelung[1]) die quantitativen Verhältnisse beeinflußt. Ferner fielen die Werte verschieden aus, als nach Verbrauch der ursprünglichen kolloidalen Eisenlösung eine neue, von angeblich gleichem Eisengehalt benutzt wurde. Die Resultate finden sich in Tabelle IV zusammengestellt. Jedenfalls geht aus den Beobachtungen hervor, daß die Diastase nicht zu den Eiweißkörpern und ihren nächsten Abkömmlingen gehört. Es gelang, aus der enteiweißten Lösung die Diastase in fester, wasserlöslicher Form zu gewinnen. Zu dem Zweck wurden 10 g Ovarialpulver mit 150 ccm Wasser und 1,5 ccm Toluol 8 Stunden auf der Schüttelmaschine mit Glasperlen geschüttelt. Nach dem Zentrifugieren der Mischung resultierten 126 ccm Filtrat, das, mit 37,8 ccm Eisenlösung und einigen Tropfen Magnesiumsulfat versetzt, nach dem Kolieren und Filtrieren 110 ccm klares Filtrat lieferte, von dem 80 ccm abermals mit 24 ccm Eisenlösung versetzt in gleicher Weise behandelt wurden. Die klare, hellgelbe Flüssigkeit zeigte ebenso wie die nur einmal mit Eisenlösung behandelte noch schwache Biuretreaktion. Sie wurde deshalb mit dem Rest der 110 ccm des ersten Filtrates vereinigt. Die Lösung — 140 ccm — wurde im Vakuum bei 40° unter Durchleiten eines durch Kaliumpermanganat gereinigten Luftstromes auf 15 ccm eingeengt. Nach dieser Konzentrierung ist die Biuretreaktion deutlicher geworden. 45 ccm absoluter Alkohol erzeugten eine weiße, flockige Fällung, die abzentrifugiert und nach Entfernung der Flüssigkeit nochmals mit 50 ccm Alkohol verrührt und zentrifugiert wurde. Das nach Abgießen des Alkohols zurückbleibende Pulver wurde im Vakuum getrocknet. 0,1 g desselben löste sich in 10 ccm Wasser unter Trübung auf, von der nach dem Zentrifugieren abfiltriert wurde. Das nunmehr klare Filtrat besaß schwache Biuret- und Tryptophanreaktion. Von dieser Lösung genügten 0,5 ccm, um in $2^1/_2$ Stunden 5 ccm einer 1 °/₀ igen Stärkelösung vollständig zu verzuckern.

[1]) Vgl. Jacoby und Schütze, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. und experimentelle Therapie I, 4, 730, 1910. — Jacoby, Centralbl. f. Physiol. 26, Nr. 2, 1912.

Um schließlich einen Anhaltspunkt für den Gehalt des ursprünglichen Ovarialpulvers an Diastase zu erhalten, wurde nach der Methode Wohlgemuths[1]) verfahren. 1 g Pulver schüttelten wir mit 30 ccm 0,9 °/₀ iger Kochsalzlösung eine Stunde. Nach dem Zentrifugieren wurden 25 ccm Extrakt auf 5 ccm der festen Masse erhalten. Von dem klaren Filtat, 1 : 10 mit Wasser verdünnt, genügten 0,04 ccm, um in 24 Stunden 5 ccm 1 °/₀ige Stärkelösung zu verzuckern. Daraus ergibt sich $D_{37°}^{24\,Std.} = 625$. Dieser Wert weist auf einen verhältnismäßig geringen Gehalt des Organs an Diastase hin. Bei gleicher Behandlung lieferte Schweinepankreaspulver, wie in einer demnächst erscheinenden Arbeit festgestellt wurde, den Wert $D_{37°}^{24\,Std.} = 215000$.

b) Invertase.

Ein Enzym, das Rohrzucker zu invertieren imstande ist, findet sich in dem Ovarialpulver nicht. Dieser negative Befund hat sich auch bereits bei andern Organen, wie Milz und Placenta, in hier ausgeführten Untersuchungen feststellen lassen. Die Zuckerbestimmung wurde in diesem Falle nur nach Bang ausgeführt, da die Wägungsmethoden an der Ausscheidung eines die Filtration sehr erschwerenden Niederschlages scheiterten. Die Resultate sind in Tabelle V zusammengestellt.

Tabelle V.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Nach 2 Tagen		Nach 3 Tagen		Nach 4 Tagen	
		verbrauchtes Hydroxylamin ccm	Osazon	verbrauchtes Hydroxylamin ccm	Osazon	verbrauchtes Hydroxylamin ccm	Osazon
1	Pulver . . . . 0,5 g Rohrzucker . . 1 g 0,9 °/₀ NaCl-Lös. 200 ccm Toluol . . . . 2,5 ccm	49,67	—	49,52	—	49,53	—
2	Pulver . . . . 0,5 g 0,9 °/₀ NaCl-Lös. 200 ccm Toluol . . . . 2,5 ccm	49,59	—	49,40	—	49,40	—
3	Rohrzucker . . 1 g 0,9 °/₀ NaCl-Lös. 200 ccm Toluol . . . . 2,5 ccm	49,92	—	49,91	—	49,93	—

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 47, 92, 1910 u. a. a. O.

Zur Analyse wurden 40 ccm der filtrierten Mischungen mit Eisenlösung und Wasser auf 100 ccm gebracht und je 10 ccm des Filtrates mit 50 ccm Bangscher Kupferlösung nach Vorschrift behandelt. Die Tabelle gibt die verbrauchten Kubikzentimeter der Hydroxylaminlösung.

c) Lactase.

Ebensowenig wie eine Invertase findet sich in den Ovarien ein Milchzucker spaltendes Enzym. Die Prüfung wurde durch Digerieren des Pulvers mit 1 %iger Milchzuckerlösung bei 37° unter Zusatz von einem Volumprozent Toluol ausgeführt. Am 3., 4. und 5. Tage wurden Proben zur Untersuchung entnommen; den Toluolzusatz erneuerten wir täglich. Wir beobachteten keine Änderung in der Drehung des polarisierten Lichtes, keine Entstehung eines vergärbaren Zuckers. Zur Polarisation enteiweißten wir 25 ccm der filtrierten Reaktionslösungen mit 15 ccm kolloidaler Eisenlösung unter Zusatz von Magnesiumsulfat, füllten auf 50 ccm auf und filtrierten.

Zur Entscheidung der Frage, ob ein vergärbarer Zucker bei der Einwirkung des Ovarialpulvers entsteht, verfuhren wir in der Weise, daß wir einmal die Filtrate der enteiweißten Reaktionslösungen direkt mit Hefe behandelten, dann, indem wir ein Gemisch von Ovarialpulver, Hefe und 1 %iger Milchzuckerlösung direkt in 24 Stunden zu vergären suchten. Die Resultate blieben eindeutig negativ, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle VI.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Polarisationswerte			Gärung
		3. Tag	4. Tag	5. Tag	
1	1 %ige Milchzuckerlös. 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	0,30°	0,30°	0,30°	—
2	Aq. destill. . . . . . 50 ccm Pulver . . . . 0,5 g Toluol . . . . 0,5 ccm	—	—	—	—
3	1 %ige Milchzuckerlös. 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,30°	0,30°	0,30°	—

Die Versuche waren in mehreren Reihen gleichzeitig angesetzt worden. Die Wirksamkeit der Hefe wurde an Traubenzuckerlösungen ständig kontrolliert.

d) Glykolytisches Enzym.

Obgleich es dem einen von uns bei keiner seiner mannigfachen Untersuchungen über Organenzyme geglückt war, ein glykolytisches, d. h. Traubenzucker ohne Mitwirkung des Sauerstoffs zerstörendes Enzym zu finden, so haben wir es doch bei der Bedeutung eines positiven Befundes für richtig gehalten, auch die Ovarien auf das Vorkommen eines derartigen vielleicht Zymase ähnlichen Enzyms genau zu untersuchen.[1] Das Resultat war, wie in den früheren Fällen, absolut negativ.

2 g Ovarialpulver wurden mit 2,5 g Traubenzucker in 200 ccm 0,9%iger Kochsalzlösung unter Zusatz von 2,5 ccm Toluol zunächst 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Sodann wurde eine Probe entnommen und der Rest 3 Tage bei 37° digeriert und täglich eine Probe auf ihren Zuckergehalt untersucht. Zur Ermittelung des letzteren enteiweißten wir 25 ccm des Filtrates mit 10 ccm kolloidaler Eisenlösung und 1 ccm 10%iger Magnesiumsulfatlösung, füllten auf 50 ccm mit Wasser auf und benutzten das Filtrat zur Bangschen Bestimmung, für die je 5 ccm verwendet wurden, und zur Polarisation. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle enthalten.

Tabelle VII.

Nr.	Zuckergehalt vor der Digestion		Zuckergehalt nach der Digestion							
			nach 6 Std.		nach 1 Tag		nach 2 Tagen		nach 3 Tagen	
	Bang %	Polar. %	Bang %	Polar. %	Bang %	Polar. %	Bang %	Polar. %	Bang %	Polar. %
1	0,65	0,62	0,66	0,64	0,65	0,68	0,65	0,64	0,64	0,62
2	0,72	0,72	0,71	0,70	0,74	0,72	0,72	0,74	0,73	0,70

4. Lecithase und Lipase.

Die Ovarien enthalten ein das Lecithin deutlich spaltendes Enzym. Zu seinem Nachweis stellten wir durch mehrstündiges Schütteln von 2 g reinem Lecithin (Agfa) mit 200 ccm Wasser eine gleichmäßige beständige Emulsion dar, die in einer Reihe von Reagensgläsern verteilt wurde. Es wurden dann Proben mit gekochtem und ungekochtem Pulver sowie mit letzterem unter Zusatz von absolutem Alkohol, aber ohne Lecithin, 24 Stunden im Brutschrank digeriert, der Inhalt der Reagensgläser mit absolutem Alkohol quantitativ in Bechergläser übergeführt und

die entstandene Säure mit $^{1}/_{10}$ n-Natronlauge und Phenolphthalein als Indikator titriert. Da in dem Ovarialpulver Peptone vorhanden sind, so findet auch ohne Lecithinspaltung ein Verbrauch an Natronlauge statt. Derselbe wird jedoch in Gegenwart des Lecithins über das Doppelte gesteigert. Die Versuchsdaten, aus denen die Gegenwart einer Lecithase unzweideutig hervorgeht, finden sich in der folgenden Tabelle.

Tabelle VIII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Verbrauch an $^{1}/_{10}$-NaOH ccm
1	5 ccm Lecithinemulsion, 0,5 g Pulver [ungekocht] (2 Tropfen Toluol)	7,10 9,80
2	5 ccm Lecithinemulsion, 0,5 g Pulver [gekocht] (2 Tropfen Toluol)	3,45 4,05
3	5 ccm Lecithinemulsion ohne Zusatz	0,64 0,60
4	5 ccm Lecithinemulsion, 0,5 g Pulver [gekocht] sofort nach Mischung titriert	3,45 3,60
5	5 ccm Alkohol (ohne Lecithin), 0,5 g Pulver 24 Stunden im Brutschrank	2,00 1,82

Für die Fähigkeit der Fettspaltung wurden Versuche mit Butter und reinem Tributyrin angestellt, die gleichfalls ein positives Ergebnis aufwiesen. Wir wählten zur Untersuchung sowohl das von Löb und Higuchi angewandte Verfahren als auch das von Salkowski[1]) beschriebene.

Tabelle IX.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Verbrauch an $^{1}/_{10}$ n-NaOH ccm
1	2 ccm flüssige Butter, 0,5 g Pulver, 0,5 ccm Wasser	5,05 6,70
2	2 ccm flüssige Butter, 0,5 ccm Wasser	0,05 0,05
3	0,5 g Pulver, 0,5 ccm Wasser	2,10 3,30

Frische Butter wurde in Äther gelöst, die ätherische Lösung durch ein trockenes Filter filtriert und der Äther im Vakuum über Schwefelsäure verdunstet. Die in Reagensgläsern verteilten

[1]) Praktikum der physiol. u. pathol. Chem., 2. Aufl., S. 149.

Proben blieben 24 Stunden im Brutschrank, wurden sodann mit Wasser in Erlenmeyerkölbchen quantitativ übergeführt und unter Zusatz von Phenolphthalein gegen $^1/_{10}$ n-Natronlauge titriert.

Die Angaben beziehen sich auf zwei voneinander unabhängige Versuchsreihen.

Zur Prüfung nach Salkowskis Vorschrift wurde mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge (Rosolsäure als Indikator) neutralisierte Butteremulsion zu gekochtem und ungekochtem Pulver gefügt, mit 0,2 $^0/_0$ iger Sodalösung aufs neue neutralisiert und 24 Stunden bei 37° digeriert. Danach wurde die eingetretene Säuerung mit 0,2 $^0/_0$ iger Sodalösung festgestellt. Im einzelnen verfuhren wir folgendermaßen: Je 0,2 g Ovarialpulver, gekocht und ungekocht, versetzten wir mit einer Emulsion von 1 ccm flüssiger Butter in 5 ccm Wasser, die mit $^1/_{10}$ n-Natronlauge bis zum Auftreten der roten Farbe des Rosolsäureindikators neutralisiert war. Durch die Peptone des Pulvers erfolgte ein Umschlag in Gelb. Zu erneuter Neutralisation gebrauchte die Probe mit ungekochtem Pulver 0,3 ccm, die mit gekochtem Pulver 0,25 ccm der 0,2 $^0/_0$ igen Sodalösung. Von den nunmehr roten Mischungen war die Probe mit dem ungekochten Pulver nach der Digestion gelb gefärbt und bedurfte 0,82 ccm der Sodalösung zur Neutralisation. Die mit dem gekochten Pulver angesetzte Probe war rot geblieben. Die Versuche sind mit dem gleichen Resultate einige Male wiederholt worden.

In der gleichen Weise und mit dem gleichen Resultat stellten wir weitere Versuche an, in denen die Butter durch reines Tributyrin (Kahlbaum) ersetzt war. Bei Anwendung von 1 ccm desselben gebrauchte die ungekochte Mischung nach der Digestion 6,15 ccm 0,2 $^0/_0$ ige Sodalösung, während die schwach rosa gebliebene gekochte Probe durch 0,52 ccm auf den gleichen Farbenton gebracht wurde.

5. Eiweißspaltende Enzyme.

Die eiweißspaltenden Enzyme vom Typus des Pepsins und Trypsins scheinen, wenn auch nicht zu den allgemeinen Zellenzymen, so doch zu den verbreitetsten Organenzymen des tierischen Organismus zu gehören und für die Lebensbetätigung der tierischen Zelle von ausschlaggebender Bedeutung zu sein. Beide sind auch im Ovarialpulver enthalten.

Zum Nachweis der Pepsinwirkung benützen wir reinstes Casein. Nach 72stündiger Wirkung bei 37° wurden die Mischungen filtriert und je 10 ccm der Filtrate nach Kjeldahl auf den Gehalt an gelösten Stickstoffverbindungen geprüft. Die Proteolyse im entscheidenden Versuch ließ sich auch an der ausgeprägten Biuretreaktion des Filtrates erkennen.

Tabelle X.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Verbrauch an $^1/_{10}$ n-H_2SO_4 nach 72 Stunden		
		ccm	ccm	ccm
1	Casein . . . . 0,5 g Pulver . . . . 0,5 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	6,35	5,90	5,10
2	Pulver . . . . 0,5 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	1,05	3,92	2,80
3	Casein . . . . 0,5 g Aq. dest. . . . . 50 ccm Toluol . . . . 0,5 ccm	0,80	0,50	0,65

Die Werte beziehen sich auf drei voneinander unabhängige Versuchsreihen.

Das Vorhandensein eines tryptisch wirkenden Enzyms ließ sich sowohl durch die Spaltung des Glycyltryptophans, wie aus der Bildung von Tyrosin aus Seidenpepton erkennen.

Zur ersteren Probe benutzten wir das von Kalle & Co. gelieferte „Fermentdiagnostikum“, das nach 24stündiger Einwirkung von 0,5 g Ovarialpulver mit Bromdämpfen die bekannte Tryptophanreaktion lieferte.

Aus einer 20%igen Seidenpeptonlösung wurde durch 48stündige Digestion mit 0,5 g Pulver und 0,05 ccm Toluol durch Ansäuern mit Essigsäure, Eindampfen des Filtrates, Extraktion mit Methylalkohol und Aufnehmen des Rückstandes in heißem ammoniakalischem Alkohol eine Lösung gewonnen, die filtriert, eingeengt und abgekühlt Tyrosin in typischen Krystallen ausfallen ließ.

6. Urease und Desamidase.

Im Ovarialpulver ist eine Urease vorhanden, während eine gegenüber Glykokoll wirksame Desamidase fehlt. Zur Bestim-

mung des etwa abgespaltenen Ammoniaks wurden nach 4, 5 und 6tägiger Digestion bei 37° — vom zweiten Tage an wurde der Toluolzusatz täglich erneuert — je 25 ccm des Filtrates mit der gleichen Menge kolloidaler Eisenlösung und 5 ccm Magnesiumsulfatlösung versetzt und nach dem Auffüllen mit destilliertem Wasser auf 100 ccm filtriert. Aus je 50 ccm der mit 50 ccm Wasser und 2 g Magnesia usta versetzten Filtrate wurde das Ammoniak im Vakuum aus einem Wasserbad bei 40° vollständig abgetrieben und im Destillat bestimmt. In der Tabelle sind die zur Neutralisation verbrauchten Mengen $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure angegeben.

Tabelle XI.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung		4 Tage	5 Tage	6 Tage
1	0,9%ige NaCl-Lösung . . . . Pulver . . . . Toluol	50 ccm 0,5 g 0,5 ccm	1,10	1,15	0,96
2	0,9%ige NaCl-Lösung . . . . Pulver . . . . Glykokoll . . . . Toluol	50 ccm 0,5 g 0,2 g 0,5 ccm	0,25	0,10	0,18
3	0,9%ige NaCl-Lösung . . . . Pulver . . . . Harnstoff . . . . Toluol	50 ccm 0,5 ccm 0,2 g 0,5 ccm	2,55	2,15	3,10
4	0,9%ige NaCl-Lösung . . . . Harnstoff . . . . Toluol	50 ccm 0,2 g 0,5 ccm	0,20	0,40	0,27

7. Nuclease.

Als Substrat für eine Nucleasewirkung des Ovarialpulvers wurde hefenucleinsaures Natrium benutzt, aus dem sowohl die Bildung von Phosphorsäure wie die von Purinbasen nachgewiesen werden konnte[1]). Da die Wasserlöslichkeit der Nuclease vorausgesetzt werden konnte, stellten wir sogleich einen wässerigen Auszug des Pulvers dar und begnügten uns bei dem positiven Ausfall der Resultate mit der Untersuchung des Extraktes.

Zur Herstellung der Enzymlösung wurden 5 g Pulver mit 100 ccm Wasser und 1 ccm Toluol eine Stunde auf der Schüttel-

[1]) Bezüglich der Methodik vgl. auch Kan Kato, Zeitschr. f. physiol. Chem. 75, 456, 1911.

maschine geschüttelt, die Mischung zentrifugiert und die Flüssigkeit filtriert.

Es kamen sodann je dreimal folgende beiden Proben 24 Stunden in den Brutschrank:

1. Ungekochte Enzymlösung 10 ccm, 2%ige Lösung von hefenucleinsaurem Natrium 10 ccm, Toluol 0,2 ccm.

2. Gekochte Enzymlösung 10 ccm, 2%ige Lösung von hefenucleinsaurem Natrium 10 ccm, Toluol 0,2 ccm.

Nach Beendigung der Digestion wurden die Mischungen durch Kochen und Ansäuern mit Essigsäure unter Zusatz von Kochsalz enteiweißt, der Niederschlag gründlich ausgewaschen und die Phosphorsäure im Gesamtfiltrat mit Ammoniak und Magnesiamischung gefällt und in bekannter Weise bestimmt.

In den Versuchen mit ungekochter Enzymlösung wurde an P_2O_5 ermittelt

0,0279 g 0,0214 g 0,0280 g,

unter Verwendung der gekochten Enzymlösung

0,008 g 0,0071 g 0,0134 g.

In gleicher Weise eindeutig fiel die Untersuchung auf die Abspaltung von Purinbasen aus.

Wir wandten für diese Versuche etwas größere Mengen Material an:

1. Ungekochte Enzymlösung 50 ccm, 10%ige Lösung von hefenucleinsaurem Natrium 50 ccm, Toluol 1 ccm.

2. Gekochte Enzymlösung 50 ccm, 10%ige Lösung von hefenucleinsaurem Natrium 50 ccm, Toluol 1 ccm.

3. Wasser 50 ccm, 10%ige Lösung von hefenucleinsaurem Natrium 50 ccm, Toluol 1 ccm.

Jeder Versuch wurde doppelt angesetzt, die Digestionszeit bei 37° betrug wieder 24 Stunden.

Die Prüfung auf Purinbasen wurde in folgender Weise ausgeführt. Nach quantitativer Überführung der Reaktionsgemische in einen 200-ccm-Meßkolben mittels 10%iger Natriumacetatlösung und Zusatz einer 20%igen Tanninlösung zur Enteiweißung wurde mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Aus 100 ccm des Filtrates fällten wir in einem 250-ccm-Meßkolben das Tannin mit 10%iger Bleiacetatlösung, füllten wieder bis zur Marke auf und benutzten je 100 ccm des nunmehr resultierenden Filtrates zur weiteren Analyse. Nach Ent-

fernung des gelösten Bleis durch Schwefelwasserstoff, wobei der Niederschlag von Schwefelblei sehr gründlich nachgewaschen werden muß, wurde das gesamte Filtrat im Vakuum bei 35° bis 38° auf ein kleines Volumen eingeengt. Durch Zugabe einer ammoniakalischen Silbersalzlösung ließen sich in den Versuchen mit ungekochtem Enzymsaft die Purine in Form ihrer Silberverbindungen abscheiden, während bei Verwendung des gekochten Enzymsaftes und bei Ersatz desselben durch Wasser überhaupt kein Niederschlag entstand. Nach 24stündigem Stehen wurde die Silberfällung auf einem kleinen Filter gesammelt, mit Wasser ammoniakfrei gewaschen und ihr Stickstoffgehalt nach Kjeldahl ermittelt. Die beiden nach Vorschrift 1 angesetzten Versuche gaben 10,150 und 6,12 mg Stickstoff; alle anderen überhaupt keine Purinfällung.

8. Tyrosinase.

Tyrosinase ließ sich in dem Extrakt des Ovarialpulvers nicht nachweisen. Sowohl die von Fürth und Jerusalem[1]) angegebene Probe — Zusatz einer 0,05°/₀igen Tyrosinlösung zu steigenden Mengen Fermentlösung und entsprechend fallenden Mengen einer 0,04°/₀igen Sodalösung — wie die Farbreaktionen mit Brenzkatechin und p-Kresol[2]) verliefen bei 24stündiger Einwirkung vollkommen negativ.

Zusammenfassung.

In den Schweineovarien sind Katalase, Diastase, Lecithase, Lipase, eiweißspaltende Enzyme vom Typus des Pepsins und Trypsins, Urease und Nuclease zugegen, während Peroxydase, Invertase, Lactase, glykolytisches Enzym, Desamidase und Tyrosinase fehlen.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 476.

[2]) Vgl. Abderhalden, Biochem. Arbeitsmethoden **3**, S. 60.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XIII.

Die Beziehungen von Eiweiß zu anorganischen Kolloiden und Schwermetallsalzen.

Von

Wolfgang Pauli und **Leo Flecker.**

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der Biologischen Versuchsanstalt in Wien.)

(Eingegangen am 3. Mai 1912.)

Mit 5 Figuren im Text.

In den Bemühungen um die physikalische Chemie der Eiweißkörper nimmt die Feststellung der Beziehung derselben zu Neutralsalzen, Säuren und Basen den größten Raum ein, während die wenigen Arbeiten, die den Wechselwirkungen von Proteinen und Schwermetallsalzen gewidmet sind, große Lücken für unser Verständnis dieses chemisch, technisch und medizinisch wichtigen Problems offen gelassen haben. Da schon die bisherigen Arbeiten den Vorgang der Schwermetallsalzfällung von Eiweißstoffen als einen durch das Zusammenwirken von hydrolytisch abgespaltenen Metallhydroxyden, Ionen und neutralen Molekülen mit dem Eiweiß überaus komplizierten erkennen lassen, so hat ein jeder Versuch, hier aufzuklären, die Kenntnis des Effektes aller dieser einzelnen Komponenten auf das Eiweiß zur Voraussetzung. In diesem Punkte soll die vorliegende Untersuchung einsetzen, die zunächst in ihrem ersten Teile das Tatsachenmaterial in bezug auf das Verhältnis der Eiweißkörper zu den anorganischen Kolloiden überhaupt ergänzen mußte, um dann im zweiten die Erscheinungen der Schwermetallsalzbeziehungen mit dem Eiweiß einer vorerst allgemeinen Analyse zu unterwerfen.

A. Anorganische Kolloide und Eiweiß.

1. Experimenteller Teil.

(Sämtliche Tabellen im Anhang.)

Die Untersuchungen der letzten Jahre[1]) haben immer mehr zum Ausdruck gebracht, daß Elektrolyte schon in so kleinen Mengen, wie man dies bis dahin nicht für möglich gehalten hatte, mit Hilfe feinerer physikalisch-chemischer Methoden nachweisbare Zustandsänderungen der Eiweißkörper zur Folge haben. Schon die ersten Vorversuche, die zur Orientierung vorgenommen wurden, machten es evident, daß auch für die Beziehungen der Eiweißkörper zu den anorganischen Kolloiden geringe, bisher im allgemeinen nicht in Betracht gezogene Elektrolytspuren von Bedeutung sind und diese Reaktionen in einem großen Umfange abändern oder selbst ins Gegenteil verkehren können. Es war daher die erste methodische Aufgabe, die zur Verwendung kommenden Substanzen, sowohl anorganische Kolloide als auch Eiweißstoffe im Zustande größtmöglichster Elektrolytfreiheit zu gewinnen.

Herstellung der Eiweißlösungen.

Zur Anwendung kam zunächst ein Rinderserumalbumin, dessen Reinigung in der folgenden Weise ausgeführt wurde. Das frische Blut wurde durch Schlagen und Zentrifugieren von Fibrin und Blutkörperchen befreit und das so gewonnene Serum, das jetzt noch Albumin, Globulin, Lipoide sowie Salze enthält, einer achtwöchigen Dialyse gegen fließendes, destilliertes Wasser unterworfen. In dem Maße, als mit der fortschreitenden Dialyse der Salzgehalt abnimmt, flockt das Globulin aus. Von dieser Flockung wird abfiltriert. Die erhaltene Flüssigkeit zeigt nach mehrwöchigem Ablagern eine nachträgliche Globulintrübung, die durch nochmalige Filtration beseitigt wird. Alle Operationen wurden zur Verhinderung von Fäulnis unter Zusatz von Toluol vorgenommen.

Auf diese Weise wurde eine wasserklare Flüssigkeit gewonnen, die nahezu die Leitfähigkeit des reinen Wassers und im elektrischen Felde eine ganz schwache anodische Konvektion zeigt, eine Gefrierpunktsdepression von 0,002° besitzt, durch Hitze und Alkohol glatt fällbar ist und nur noch geringe Mengen Serumlipoide enthält, die ohne Denaturierung des Eiweiß nicht entfernt werden können. Die so gewonnenen Lösungen enthalten höchstens 2°/₀ Albumin.

---

[1]) Vgl. W. Pauli, Kolloidchemische Studien am Eiweiß. Dresden 1908, Theodor Steinkopff; und Fortschritte d. naturwiss. Forschung 4, 223, 1911/12. Urban und Schwarzenberg, Wien-Leipzig.

Zur Herstellung der Gelatinelösung wurde feinste Handelsgelatine, Goldmarke, einer 30tägigen Dialyse gegen fließendes, destilliertes Wasser unterworfen und hierauf eine ca. 0,8 %ige Lösung bereitet.

Herstellung der angewandten anorganischen Kolloide.

Auch bei der Herstellung der anorganischen Kolloide wurde das Hauptaugenmerk auf eine möglichste Entfernung der Elektrolyte gerichtet.

In Verwendung kamen von elektropositiven Kolloiden $Fe(OH)_3$, $Cr(OH)_3$, von negativen As_2S_3, Sb_2S_3, CuS, CdS, Au, Kieselsäure, Wolframsäure und Molybdänsäure.

Das Ausgangsmaterial für kolloides $Fe(OH)_3$ bildete das offizinelle Präparat „liquor ferri oxydati dialysati", das noch einer 20tägigen Dialyse unterzogen wurde. Dieses $Fe(OH)_3$ war fällbar durch 0,012 n-KCl und durch 0,0007 n-NaOH. Es koagulierte bereits beim Verdünnen mit Hochquellwasser.

Kolloides $Cr(OH)_3$ wurde durch Dialyse von $Cr(NO_3)_3$ erhalten, in dem frisch gefälltes $Cr(OH)_3$ gelöst war. Der Schwellenwert für dieses Kolloid war 1 n-KCl.

As_2S_3 und Sb_2S_3 wurden nach der Methode von Berzelius-Schulze[1]) aus As_2O_3, bzw. Brechweinstein hergestellt und 20 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert. Die so erhaltenen Lösungen waren sehr beständig, und selbst nach monatelangem Stehen zeigten sie nur geringe „Alterserscheinungen".

Zum Unterschiede davon erwiesen sich CdS und CuS, die nach der Methode von Winssinger[2]) durch Einleiten von H_2S in die in H_2O aufgeschlemmten, gut gewaschenen, elektrolytfreien Hydroxyde hergestellt wurden, bei Elektrolytabwesenheit wenig beständig. Wurde nämlich die Dialyse länger als 2 Tage ausgedehnt, so daß fast aller H_2S entfernt war, so begannen die Sulfide stark auszuflocken, was übrigens immer geschieht, wenn man den H_2S durch ein inertes Gas zu vertreiben suchte. Es konnten von diesen Kolloiden nur Lösungen zur Anwendung kommen, die einen Tag dialysiert waren, also, wie insbesondere das CuS, noch kleine Mengen von Elektrolyt (H_2S) enthielten.

Kolloides Au wurde nach der Formolmethode von Zsigmondy[3]) hergestellt. Es hatte die vorgeschriebene schön rote Farbe und wurde 14 Tage dialysiert.

Die kolloide Kieselsäure, Wolframsäure und Molybdänsäure wurden nach der Grahamschen Methode[4]) durch Zersetzung der betreffenden Na-Salze mit Salzsäure und 14tägiger Dialyse gewonnen. Die so erhaltenen Lösungen waren äußerst beständig; sie wurden weder durch

[1]) Journ. f. prakt. Chem. (2) **25**, 931, 1882; (2) **27**, 320, 1883.

[2]) Recherches sur l'état colloidal. Bull. Acad. roy. Belg. (3) **15**, 390, 1888. — Bull. Soc. chem. de Paris (2), **49**, 452, 1882.

[3]) Liebigs Annal. **1898**, 301.

[4]) Annal. d. Chem. **121**, 36. — Annal. de Chim. et de Phys. (4), **3**, 127.

Säuren, noch durch Salze ausgefällt. Die Kieselsäure wurde selbst durch Zusatz von Carbonat oder Durchleiten von CO_2, die sie nach der Grahamschen Angabe zur Koagulation bringt, nicht ausgeflockt. Unsere Kieselsäure stimmt also in ihren Eigenschaften mit der nach der Grimauxschen Methode durch Verseifung des Kieselsäuremethylesters gewonnenen überein. Die Ursache dürfte in der langen Dialyse liegen, wozu statt des Dialysierschlauches, den Graham und andere angeben, im Institute nahtlose Pergamentsäckchen verwendet wurden, bei denen die Dialysenoberfläche wesentlich größer ist.

Technik. Ein Flockungsversuch wurde in der Weise ausgeführt, daß zu der Eiweißlösung im Bedarfsfalle der betreffende Elektrolyt und erst dann das anorganische Kolloid hinzugefügt wurde. Dabei waren die Konzentrationen und die Menge der Zusätze so gewählt, daß in allen Versuchen ein konstantes Endvolumen resultierte und die Endkonzentration die gewünschte war. Außerdem wurde darauf geachtet, daß die Mischungen stets gleichartig ausgeführt wurden, und um die Größe der Niederschläge schätzen zu können, wurden immer gleichkalibrige Eprouvetten verwendet. Das Ergebnis wurde 24 Stunden nach Beginn des Versuches aufgezeichnet, da erfahrungsgemäß nach dieser Zeit weitere Änderungen im Niederschlag nicht erheblich sind.

* * *

Vor der Mitteilung der Ergebnisse seien einige Daten über die schon vorhandenen einschlägigen Versuche vorausgeschickt. Nach den gegenwärtig herrschenden Anschauungen werden kolloide Lösungen als heterogene Systeme in der Regel von zwei Phasen betrachtet, die als Dispersionsmittel und disperse Phase bezeichnet werden. Wo. Ostwald teilt dieselben nach der Formart der dispersen Phase ein in

1. Suspensoide, bei denen eine feste Phase in einer flüssigen zerteilt ist, und in

2. Emulsoide, bei denen sowohl Dispersionsmittel als auch disperse Phase flüssig ist. Da jedoch der flüssige Charakter der dispersen Phase bei den Emulsoiden keineswegs überall festgestellt ist, sei hier mit H. Freundlich vor allem eine Eigenschaft dieser kolloiden Zustandsform in den Vordergrund gestellt, nämlich ihr lyophiler Charakter, d. h. die innigen Beziehungen zwischen „Lösungsmittel“ und „gelöstem“ Stoff, die diese Substanzen den Solvatbildnern nahestellen.

Die Suspensoide sind durch geringe innere Reibung, sowie durch eine große Empfindlichkeit gegen Elektrolyte ausgezeichnet, während die lyophilen Kolloide selbst in niedrigen Konzentrationen eine verhältnismäßig hohe innere Reibung besitzen

und nur durch hohe Konzentrationen von Elektrolyten in Gele verwandelt werden.

Über die Beziehungen der anorganischen Kolloide zueinander liegen bereits eingehende Angaben — W. Biltz[1]), J. Billiter[2]) — vor, dagegen wurde das Verhalten von anorganischen Kolloiden zum Eiweiß und die Rolle anwesender Salze nur wenig systematisch untersucht. Die darüber vorhandenen Versuche von Bechhold, Neißer und U. Friedemann[3]), Landsteiner und Jagic[4]) wurden hauptsächlich aus medizinischem Interesse, zum Zwecke der Erklärung der Präzipitation und Bakterienagglutination, vorgenommen.

Zwischen den Wechselbeziehungen der Suspensoide zueinander und dieser zu lyophilen Kolloiden bestehen tiefgreifende Unterschiede.

Die Ergebnisse der Untersuchungen über die Wechselwirkung von Suspensoiden lassen sich dahin formulieren, daß

1. entgegengesetzt geladene Kolloide einander ausflocken, wobei es

2. für beide eine bestimmte Konzentration gibt, bei der die Fällung optimal wird.

3. Ist eines der Kolloide im Überschuß vorhanden, so wird die Fällung aufgehoben (W. Biltz, J. Billiter).

Während sich in der optimalen Fällung die elektrischen Ladungen ausgleichen, nehmen im Falle des Überschusses eines der Komponenten die Teilchen die Ladung dieses Kolloids an (J. Billiter).

Anders und viel komplizierter liegen die Verhältnisse bei den Eiweißkörpern und anorganischen Kolloiden. Nach den Untersuchungen von Landsteiner und Jagic[4]) vermögen sowohl positive als auch negative Kolloide Eiweiß zu fällen, was auf den amphoteren Charakter des Eiweiß als Polyaminosäure zurückgeführt wird. Biltz, Much und Siebert[5]) dagegen behaupten, daß nur positive Kolloide Eiweiß fällen und von negativen nur Zinnsäure Eiweiß zu koagulieren vermag. U. Friede-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **1904**, 3138.
[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **45**, 306; **51**, 128.
[3]) Zeitschr. f. physikal. Chem. **48**, 385.
[4]) Wiener klin. Wochenschr. **1904**, Nr. 3.
[5]) Behrings Beiträge z. experim. Therap. **1905**, Heft 10.

mann[1]) hat die Versuche wieder aufgenommen, um auch die Rolle von Salzen bei den Fällungen zu studieren, da vor ihm nur vereinzelte, kontroverse Beobachtungen hierüber vorlagen. Friedemann glaubt den Nachweis erbracht zu haben, daß Salzzusatz bei allen Kolloidfällungen die Fällung sowohl hemmen als auch fördern kann, abhängig von den Mengenverhältnissen der reagierenden Kolloide. Dies ist durch die vorliegende Arbeit als eine zu weit gehende Verallgemeinerung einer vielfach richtigen Beobachtung erkannt worden. Auf die Versuche von Friedemann wird später noch zurückzukommen sein.

Unsere Versuche ergaben ganz allgemein, daß die anorganischen Kolloide nach ihren Reaktionen mit Eiweiß in zwei Hauptgruppen zerfallen, bei denen sich auch sonst gewisse auffällige Unterschiede in ihren physikalischen Eigenschaften wahrnehmen lassen. Zur ersten Gruppe gehören Suspensoide oder lyophobe Kolloide im engeren Sinne, Kolloide von großer Empfindlichkeit gegen Elektrolytzusätze, besonders starker Neigung zu einer zeitlichen Abnahme der Stabilität (Altern) und einer minimalen inneren Reibung. Dagegen zeigen die Kolloide der zweiten Gruppe mannigfache Übergänge zu den lyophilen Kolloiden, vor allem eine höhere innere Reibung. Sie finden sich im folgenden öfter unter dem Namen anorganische Lyokolloide zusammengefaßt. In der Darstellung unserer Versuche sind die untersuchten Kolloide bereits nach ihren gemeinsamen Beziehungen zum Eiweiß gruppiert.

a) Streng lyophobe Suspensoide.

Zu dieser Gruppe gehören nur negative Kolloide, nämlich As_2S_3, Sb_2S_3, CuS, CdS, Au.

Bei diesen kommt es in Gegenwart von elektrolytfreiem, nativem Eiweiß regelmäßig zu einer Ausflockung, die weder im Überschuß von Eiweiß noch des zugesetzten Suspensoids aufgehoben wird. Diese Reaktion findet erst eine Grenze in so hohen Verdünnungen der Komponenten, daß die für eine Abscheidung in Betracht kommenden Mengen einer unmittelbaren Wahrnehmung entrückt sind. Dieses Verhalten wird durch die angehängten Tabellen illustriert, z. B. Tabelle I, die diese Be-

[1]) Arch. f. Hygiene 55, 361.

obachtungen am Sb_2S_3 wiedergibt. In ganz gleicher Weise verhalten sich die anderen oben angeführten Suspensoide (siehe die Tabellen II, III, IV, V).

Wird aber zum Eiweiß Salz zugefügt, wozu meist KCl gewählt wurde, so wirkt dieses von einer bestimmten Konzentration an fällungshemmend (Tabelle I, Stab 2, 3, 4). Diese Hemmungswirkung ist beim Sb_2S_3 in 0,01 n-Lösung bereits vollständig, 0,001 n-Lösung ist noch unwirksam. Analoge Verhältnisse finden sich bei den anderen Suspensoiden. Dieses Hemmungsvermögen des Neutralsalzes auf die Ausflockung eines Suspensoides in Gegenwart von Eiweiß kann in elektrolythaltigen Lösungen tief unter dem Schwellenwert der Koagulation des reinen Suspensoides durch das betreffende Salz auftreten.

Ein gleiches Hemmungsvermögen für die Suspensoidausflockung in Anwesenheit von Albumin entfalten auch Säuren und Laugen, von denen nur die ersteren Fällungsmittel für unsere reinen Suspensoide darstellen. Auch hier bewegen sich die bereits hemmenden Konzentrationen unter dem ersten Flockungswert für das Suspensoid, und die obere Grenze der hemmenden Konzentrationen liegt hoch über dem Flockungswert für das reine Suspensoid. So ist z. B. die obere Grenze für die Hemmungswirkung beim Sb_2S_3 auch bei einer 1 n-KCl, dem 100fachen einer vollständig hemmenden Konzentration, noch nicht erreicht

Nichtelektrolyte, wie Harnstoff, Zucker, lassen keinerlei Einfluß auf die Fällung von Suspensoid bei Gegenwart von Eiweiß erkennen (Tabelle I, Stab 9, 10).

In bezug auf diese Verhältnisse zeigen die verschiedenen untersuchten negativen Suspensoide keinerlei Unterschiede des Wesens, sondern nur des Grades. Ein solches Beispiel stellt das CuS dar, das überhaupt eine längere Dialyse nicht verträgt und dementsprechend eine hohe Menge stabilisierender Elektrolyte bedarf. Daher sind hier allzu kleine Mengen von Eiweiß für die Fällung unwirksam (Tabelle IV).

Als allgemeine Ergebnisse der bisherigen Versuche darf man den Satz aufstellen: Reinstes Albumin übt auf negative Suspensoide (von der Art des Sb_2S_3 usw.) eine flockende Wirkung aus. Das Koagulum ist im Überschuß eines der reagierenden Kolloide (Eiweiß oder Suspensoid) nicht löslich.

Elektrolyte — Salze, Säuren und Basen — üben auf die Kombination Protein-Suspensoid eine Schutzwirkung aus:

1. gegen die Suspensoidausflockung bei Anwesenheit von Eiweiß unterhalb ihrer Flockungskonzentrationen für das reine Suspensoid;

2. eine Schutzwirkung sowohl gegen die Flockung Protein-Suspensoid, als auch im Vereine mit dem Eiweiß gegen die Ausflockung des Suspensoids durch Elektrolyte, sobald diese in Konzentrationen oberhalb ihres Schwellenwertes für die Suspensoidkoagulation verwendet werden.

Die bei den Kombinationen von Eiweiß und Suspensoid auftretende Flockung erscheint schon bei makroskopischer Betrachtung von den später zu beschreibenden Eiweißkolloidniederschlägen auffallend unterschieden. Nach ihrer Farbe und der Färbung der überstehenden Flüssigkeit kann es keinem Zweifel unterliegen, daß sie im wesentlichen das ganze Suspensoid enthält, denn sie unterscheidet sich in keiner Weise von der bei Koagulation des reinen Suspensoids durch irgendeinen Elektrolyten gewonnenen Abscheidung. Ebenso entspricht sie in ihrem Volumen dem bloßen Anblicke nach einer reinen Suspensoidausflockung, während Flockungen, die erhebliche Anteile des zugesetzten Eiweiß enthalten, ein ganz bedeutendes Volumen und eine namentlich bald nach ihrem Entstehen grob gallertige Beschaffenheit aufweisen. So zeigt die Sb_2S_3-Fällung das feinkörnige Aussehen des gefällten kolloiden Suspensoids, und die Goldniederschläge bedecken auch bei der Flockung mit Eiweiß in Form eines zarten Anfluges mit allmählich dazu kommendem metallischen Glanze den Boden des Reagensglases. Die Menge des Niederschlags variiert proportional der verwendeten Menge des Suspensoids und ist in weiten Grenzen von der Eiweißkonzentration unabhängig. Lag es nun nach dem makroskopischen Aussehen schon nahe, in der Flockung dieser Suspensionen bei Anwesenheit von Eiweiß eine hauptsächlich aus dem Gel des Suspensoids bestehende Abscheidung zu erblicken, so wurde diese Annahme noch durch die relativ rasche Absetzung des Niederschlages und seinen vollständig irreversiblen Charakter unterstützt. Denn es war nicht möglich, die bei Anwesenheit von Neutralsalz vorhandene Schutzwirkung durch nachträglichen Zusatz von Salz zu der

Kombination Eiweiß-Suspensoidgel in Form einer Wiederauflösung des Niederschlags zu restituieren. Der bedeutende Unterschied gegenüber den folgenden Kolloid-Eiweißausflockungen, bei denen das Eiweiß unter Umständen quantitativ im Koagulum enthalten ist, tritt weiter bei den anschließenden Versuchen hervor, in denen der Eiweißgehalt der darüberstehenden Flüssigkeit für die Sb_2S_3- und $Fe(OH)_3$-Flockung mit Hilfe der N-Bestimmung nach Kjeldahl festgestellt wurde.

Versuchsreihe.

Eiweißkonzentration: 0,808 %.

Zusatz	Zustandsänderung	Eiweißgehalt der darüberstehenden Flüssigkeit
—	—	0,808 %
0,082 % Sb_2S_3	feinkörniger orangeroter Niederschlag	0,730 „
0,082 % $Fe(OH)_3$	gallertiger brauner Niederschlag	0,268 „
0,410 % $Fe(OH)_3$	gallertiger brauner Niederschlag	0,00 „

b) Anorganische Lyokolloide.

Die zweite Gruppe umfaßt Kolloide von ausgesprochen chemischem Charakter, also entweder basische Oxyde, wie $Cr(OH)_3$ und $Fe(OH)_3$, oder saure Oxyde (Kieselsäure, Wolframsäure Molybdänsäure). Der Ladungssinn derselben ist positiv oder negativ. Diese Kolloide sind von denen der vorigen Gruppe dadurch unterschieden, daß sie in manchen Eigenschaften einen Übergang zu den lyophilen Kolloiden bieten. Sie besitzen schon eine ziemlich beträchtliche innere Reibung, und die elektropositiven Vertreter dieser Klasse haben wohl noch eine große Empfindlichkeit gegen Elektrolyte, allein die negativen sind durch Neutralsalze der Alkalimetalle, Säuren und Basen nicht mehr fällbar.

Da sich in den Versuchen auch in dem Verhalten gegenüber den Eiweißkörpern der Ladungssinn als wesentlich erwies, sind im folgenden die elektropositiven und elektronegativen Kolloide dieser Reihe getrennt abgehandelt.

Von den elektropositiven sind $Fe(OH)_3$ und $Cr(OH)_3$ zur Verwendung gekommen.

$Fe(OH)_3$. In einer Reihe von vollständig übereinstimmenden Versuchen, für die die Tabelle VI ein typisches Übersichtsbild liefert, konnten die folgenden Gesetzmäßigkeiten festgestellt werden.

$Fe(OH)_3$ gibt mit Serumalbumin eine optimale Flockungszone, die im Verhältnis von etwa 1 Gewichtsteil $Fe(OH)_3$ zu 3 Gewichtsteilen Eiweiß die stärkste Fällung aufweist. Im Überschuß des $Fe(OH)_3$ findet rasch zunehmende Lösung statt, die bei der Relation von etwa 2 : 3 vollständig wird. Dagegen zeigt sich im Überschuß des Eiweiß nur jene Änderung der Fällung, die der abnehmenden Menge $Fe(OH)_3$ entspricht, wie Parallelversuche mit gleich konzentrierter $Fe(OH)_3$-Lösung bei Elektrolytfällung derselben deutlich erkennen lassen (Tabelle VI, Stab 1).

Für das Verhältnis der Kombination $Fe(OH)_3$-Eiweiß gegen Elektrolyte kommen somit 3 Gebiete in Betracht, die optimale Flockungszone (I) und die 2 Kombinationsreihen, in denen das anorganische Kolloid (II), bzw. das Eiweiß, bezogen auf das Flockungsoptimum, im Überschuß anwesend sind (III).

Im Flockungsoptimum (I) findet durch Neutralsalz keine auffällige Beeinflussung statt (untersuchtes Konzentrationsgebiet 0,01 bis 1 n-KCl). In der klaren Lösung (II), bei Überschuß von $Fe(OH)_3$, bewirkt Salzzusatz mächtige Ausflockung, und zwar sowohl bei Salzkonzentrationen unterhalb, als auch weit oberhalb des Schwellenwertes für die Flockung des reinen $Fe(OH)_3$. Es besteht somit in diesem Bereiche das Gegenteil einer Schutzwirkung, nämlich eine viel größere Instabilität eines $Fe(OH)_3$-Eiweißkomplexes, verglichen mit der Stabilität des reinen $Fe(OH)_3$ und des reinen Eiweiß, dessen Fällungsgrenze bei 3,5 n-KCl gelegen ist. Daß auch hier das Koagulum ein Kolloid-Albuminaggregat darstellt, konnte überdies durch Untersuchung der vollständig wasserklaren, darüberstehenden Flüssigkeit erhärtet werden, in der keine Spur von Eiweiß nachweisbar war.

In der Region (III) des Überschusses von Albumin über das $Fe(OH)_3$, in der eine klärende Wirkung selbst durch hohe Albuminmengen nicht erkennbar ist, zeigt sich dagegen eine deutliche Schutzwirkung gegen die Ausflockung bei Zusatz von Neutralsalz. Diese Schutzwirkung wird von der Relation Protein zu $Fe(OH)_3$ (0,8 : 0,03) an vollständig. Dieselbe ist sowohl unter-

halb des Schwellenwertes (0,0125 n-KCl), als auch weit oberhalb desselben vorhanden und ist demnach sowohl gegen die flockende Wirkung von Eiweiß, als auch gegen die Koagulation des Kolloids durch Elektrolyte gerichtet.

Wie gegenüber dem reinen elektropositiven Kolloid, das gegen negative OH-Ionen sehr empfindlich ist, bestehen auch Unterschiede im Verhalten der Kombination Kolloid-Eiweiß gegenüber Säuren und Laugen. Stärkere Säurekonzentrationen (0,05 n-HCl) hemmen in allen drei Gebieten, schwächere (0,002 n) hemmen im $Fe(OH)_3$-Überschuß und im Flockungsoptimum. Bei sehr hohem Überschuß von Albumin übt Säure und Lauge analog dem Neutralsalz eine deutliche Schutzwirkung gegen die Flockung aus, die sowohl unterhalb als oberhalb des Schwellenwertes der reinen Kolloidflockung nachweisbar ist. Im Flockungsoptimum zeigt Lauge keine Änderung, oberhalb desselben im Überschuß des $Fe(OH)_3$ wirkt sie auch in gegenüber dem reinen Kolloid unterschwelligen Konzentrationen mächtig koagulierend auf den Kolloid-Eiweißkomplex.

Die schützende Wirkung von Säuren im Überschuß des $Fe(OH)_3$ kann durch Salzzusatz aufgehoben werden. Dagegen wird die fällende Wirkung der Lauge auf die gleiche $Fe(OH)_3$-Albuminkonzentration durch Salz nicht verändert.

Im Prinzip die gleichen Ergebnisse wurden durch die Versuche mit $Cr(OH)_3$ und Albumin gezeitigt. Auch hier findet sich die lösende Überschußwirkung des anorganischen Kolloids (II), das Flockungsoptimum (I), der Mangel einer Überschußwirkung des Albumins (III) und der verschiedene Einfluß der Neutralsalze in diesen drei Gebieten (Tabelle VII); in (II) die Vermehrung der Fällung, in (III) die Schutzwirkung, welch letztere das Neutralsalz mit Säure und Lauge teilt.

Daß hier schon schwache Säure in allen drei Gebieten jede Fällung unterdrückt, wie dies beim $Fe(OH)_3$ etwas höhere Säurekonzentrationen vollbringen, findet seine Erklärung in der viel geringeren Konzentration des angewandten $Cr(OH)_3$. Der geringe Grad der Laugenwirkung im Überschuß des $Cr(OH)_3$, der sich in einer Verschiebung und Verbreiterung des Flockungsmaximums gegen das Gebiet (I) ausdrückt, dürfte nicht nur auf der geringen Kolloidkonzentration beruhen, sondern auch auf gewisse chemische Unterschiede des $Cr(OH)_3$ und $Fe(OH)_3$ zurückzuführen

sein. Im Gegensatze zum letzteren wird ja das $Cr(OH)_3$ durch Laugenüberschuß leicht in Lösung gebracht. Diese Tatsache, die mit dem fakultativ sauren Charakter des $Cr(OH)_3$ zusammenhängt, findet ihr Analogon in der elektrischen Umladung von Cr_2O_3-Diaphragmen in den Versuchen Jean Perrins[1]) über Elektrophorese.

Die folgenden Tabellen, die analoge Versuche mit Gelatine wiedergeben, zeigen, daß im Verhalten dieses Eiweißkörpers gegen $Fe(OH)_3$ und $Cr(OH)_3$ nur gewisse quantitative Unterschiede gegenüber dem Albumin hervortreten (Tabellen VIII, IX). Die Grunderscheinungen, das Flockungsoptimum, die lösende Überschußwirkung des anorganischen Kolloids, die verstärkende Salzwirkung im Gebiet (I), der Schutz von Elektrolyt gegen Eiweißwirkung und von Protein gegen Elektrolytwirkung auf das Kolloid im Gebiet (III), kehren auch in diesem Falle wieder. Ein besonders interessanter Unterschied ergibt sich in der größeren Empfindlichkeit der Gelatine gegen schwache Säuren, die in allen Zonen schon in geringer Konzentration eine eminente Schutzwirkung gegen die Ausflockung entfalten, ein Umstand, der, wie im zweiten Teile der Arbeit noch erörtert werden soll, auch für das verschiedene Verhalten von Gelatine und Albumin gegen Schwermetallsalze von maßgebender Bedeutung ist.

Die nächste Gruppe von anorganischen negativen Lyokolloiden, von denen Kieselsäure, Molybdänsäure und Wolframsäure zur Untersuchung gelangten, unterscheidet sich von den vorausgehenden, abgesehen von der entgegengesetzten elektrischen Ladung, durch ihre vollkommene Stabilität gegen Elektrolyte. Auch gegenüber dem Eiweiß zeigen sie neben einer weitgehenden allgemeinen Übereinstimmung mit dem Verhalten kolloider Metallhydroxyde einige Besonderheiten, die nur zum Teil im entgegengesetzten Ladungssinn begründet sein dürften (Tabellen X, XI, XII).

Allen von uns als anorganische Lyokolloide zusammengefaßten Vertretern der zweiten Hauptgruppe ist im Verhalten gegen Eiweiß gemeinsam ein vollständiges Ausbleiben der Fällung bei genügendem Überschuß des anorganischen Kolloids, falls das

---

[1]) Journ. de chim. phys. 2, 601, 1904.

reine Kolloid überhaupt auf das Eiweiß fällend wirkt, ferner zeigen alle Auftreten oder Verstärkung der Fällung durch Neutralsalz bei Überschuß des anorganischen Kolloids und ein vollständiges Fehlen einer Überschußwirkung des Eiweißes.

Gegenüber den elektropositiven Lyokolloiden besteht bei den negativen durchwegs die Abweichung, daß NaOH im Gebiet (II) nicht verstärkend wirkt, sondern vollständig hemmend. Im Gebiet (III) wirken sämtliche Elektrolyte — auch Säure — schützend gegen die reine Kolloideiweißflockung. Dagegen zeigen sich innerhalb dieser Gruppe gewisse individuelle Verschiedenheiten. Säure wirkt bei Molybdän- und Wolframsäure im Gebiet (II) verstärkend bzw. fällungserzeugend und bildet damit das Gegenstück zum Verhalten der Lauge bei den elektropositiven, anorganischen Lyokolloiden.

Die Kieselsäure bildet hier eine Ausnahme, indem bei Überschuß derselben (II) Zusatz von Säure innerhalb weiter Grenzen (0,1 bis 0,001 nHCl) keinerlei Stabilitätsänderung hervorruft und die Lösung klar läßt. Ein fernerer Unterschied zeigt sich im Verhalten der verwendeten Wolframsäure, die wohl alle Beziehungen zum Eiweiß bei Elektrolytanwesenheit erkennen läßt, bei der aber in keinem Mengenverhältnis zum Eiweiß bei Abwesenheit von Elektrolyten eine Ausflockung zu finden war.

Es fällt schwer, eine befriedigende Erklärung für diese neben den gemeinsamen Zügen im Verhalten der ganzen Gruppe zutage tretenden Besonderheiten zu geben, allein es sei in diesem Zusammenhange daran erinnert, daß wir mit einer Reihe von Forschern (Mylius) verschiedene Modifikationen der Kieselsäure annehmen müssen, die sich auch im Verhalten gegen Eiweiß quantitativ unterscheiden und möglicherweise schon durch Einwirkungen wie Säurezusatz ineinander übergeführt werden können. Auch das Ausbleiben der Eiweißfällung durch reine Wolframsäure könnte in einer Eigentümlichkeit des verwendeten Präparates gelegen sein. Allerdings stehen hier Untersuchungen über je nach der Art der Herstellung verschiedene Modifikationen der Wolframsäure, mit verschiedener Reaktion gegen Eiweiß, wie sie bei der Kieselsäure bekannt sind, anscheinend noch aus. Eine Erklärung für das Ausbleiben der Eiweißfällung mit dem verwendeten Präparate kann als unwahrscheinlich abgelehnt werden, nämlich eine nennenswerte

Verunreinigung desselben mit Elektrolyten, die eine Schutzwirkung hätten entfalten können. Das Präparat war sorgfältig dialysiert und erwies sich als vollständig chlorfrei.

Die verwendeten lyophilen, anorganischen, negativen Kolloide verhalten sich sowohl in bezug auf die übereinstimmenden, als auch auf die individuellen Kriterien gegen Gelatine vollständig identisch mit dem Verhalten gegen Albumin, wie die Tabellen XIII, XIV, XV zeigen.

Zusammenfassung.

Als allgemeines Ergebnis der bisherigen Versuche über die Beziehungen der anorganischen Kolloide zum Albumin und zur Gelatine kann wohl als Regel aufgestellt werden, daß diese Eiweißkörper sowohl mit positiven als auch mit negativen Kolloiden Fällungen geben. Doch bieten dabei unsere anorganischen Suspensoide und Lyokolloide charakteristische Verschiedenheiten:

1. Die Suspensoide zeigen im Gegensatz zu den Lyokolloiden keine fällungshemmende Wirkung des anorganischen Kolloidüberschusses und Elektrolyte — Salze, Säuren und Laugen — hemmen stets diese Flockung von Kolloid-Protein.

2. Die Eiweißflockungen durch anorganische Lyokolloide sind dagegen im Überschusse der letzteren löslich.

3. Bei Überschuß des anorganischen Lyokolloids wirkt Neutralsalz stets flockungsvermehrend oder erzeugend. Zugleich wirken in diesem Gebiet auf positive Lyokolloide OH-Ionen, auf negative H-Ionen im allgemeinen koagulationsbefördernd.

4. Nur im Überschuß des Eiweißes wirken bei den Lyokolloiden sämtliche Elektrolyte flockungsbehindernd, während sie bei den Kombinationen von Suspensoiden mit Eiweiß in allen Verhältnissen die gleiche hemmende Wirkung entfalten.

5. Die Fällung von Suspensoid bei Anwesenheit von Eiweiß enthält nur einen geringen Bruchteil des Proteins, dagegen geht in den Niederschlag der anorganischen Lyokolloide ein großer Teil, unter Umständen die ganze Menge des vorhandenen Eiweißes über.

2. Zur Theorie der Kolloid-Eiweißbeziehungen.

Vor dem Übergang zur theoretischen Erörterung der beschriebenen Versuche erscheint es notwendig, auf die in der

Literatur niedergelegten, einschlägigen Beobachtungen etwas näher einzugehen, da dieselben in verschiedenen Punkten von den unsrigen abweichen. Bei manchen dieser Beobachtungen liegt die Ursache der Verschiedenheit gegen die vorher angegebenen Beobachtungen klar zutage, dort nämlich, wo es sich um die direkte Verwendung der stark elektrolythaltigen nativen oder gänzlich ungereinigten Proteine handelt, wie z. B. in den Versuchen von Billiter[1]), der die Fällungswirkung von $Fe(OH)_3$ auf seine Gelatine vollständig vermißte, oder um die Versuche von O. Teague und B. H. Buxton[2]), bei denen Serum undialysiert zur Verwendung gelangte, so daß nur eine schmale Flockungszone mit $Fe(OH)_3$ resultierte. Die Tatsache der Fällbarkeit von Eiweiß, sowohl durch positive als auch durch negative Kolloide überhaupt, die zuerst von Landsteiner und Jagic[3]) gefunden und von Biltz, Much und Siebert[4]) später bestritten wurde, erscheint auch durch die vorliegenden Versuche vollständig erhärtet.

Die eingehendste Arbeit über unseren Gegenstand stammt von U. Friedemann[5]), deren wertvollstes prinzipielles Ergebnis die Möglichkeit sowohl fördernder als auch hemmender Wirkungen von Salzen auf die Eiweißkolloidflockung darstellt, ein Befund, der weiterhin in der Literatur nicht die gebührende Würdigung gefunden hat.

In diesem wichtigen Punkte besteht eine Übereinstimmung zwischen den vorliegenden und seinen Ergebnissen, dennoch finden sich zahlreiche Unterschiede gegen unsere Feststellungen, die sich sämtlich auf die noch immer ungenügende Reinheit des von Friedemann verwendeten Materials zurückführen lassen. Diesem Mangel seiner Untersuchungen hat sich der verdiente Autor übrigens keineswegs verschlossen. So fand Friedemann im Gegensatz zu unseren Beobachtungen, welche niemals eine Überschußwirkung des Eiweißes im Sinne einer Flockungshemmung erkennen lassen, eine solche lösende Wirkung des Proteins bei $Fe(OH)_3$, $Cr(OH)_3$, ebenso bei Kieselsäure und bei Sb_2S_3.

[1]) Zeitschr. f. phys. Chem. 51, 147.
[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 62, 3.
[3]) Wiener klin. Wochenschr. 1904, Nr. 3.
[4]) Behrings Beiträge z. experim. Ther. 1905, Heft 10.
[5]) Arch. f. Hygiene 15, 361.

Dieser Fund wird ohne weiteres verständlich aus der Angabe Friedemanns, daß das von ihm verwendete Eierklar 3 bis 5%ig war und nur wenige Tage dialysiert wurde. Nach den langjährigen Erfahrungen am hiesigen Institute kann ein Eiweiß erst durch mehrwöchentliche Dyalyse genügend elektrolytfrei erhalten werden und dabei kaum über 2% konzentriert bleiben. Ja, es kann unter Umständen eine unvollständige Dialyse, aus Gründen, die von Wo. Pauli und R. Wagner[1]) näher auseinandergesetzt wurden, zunächst zur Bildung von Alkalieiweiß führen.

Ein weiteres Bedenken müssen die Angaben Friedemans über sogenannte „unregelmäßige Reihen" erwecken. Dieser Ausdruck, der vielfach in der kolloidchemischen Literatur wiederkehrt, wurde zuerst von Bechhold angewendet, um ein Phänomen zu charakterisieren, das bei gewissen Salzen 2- und 3wertiger Ionen auftritt. Hier kommt es in niederer Konzentration zu einer Fällungswirkung auf Kolloide, die bei steigender Konzentration wieder einer Lösung Platz macht, um schließlich bei fernerer Zunahme des Salzgehaltes neuerlicher Koagulation zu weichen. Dieses nicht gerade glücklich unregelmäßige Reihe genannte Phänomen ist namentlich, wie Untersuchungen von Wo. Pauli[2]) über die Schwermetallsalzeiweißfällung zeigten, eine typische, anscheinend mit der hydrolytischen Dissoziation dieser Salze zusammenhängende Erscheinung, deren nähere physikalisch-chemische Aufklärung im zweiten Teile dieser Abhandlung noch folgen soll. Friedemann versteht unter unregelmäßigen Reihen, abweichend von Bechhold, das Auftreten, übrigens nicht gut reproduzierbarer Fällungen oder Fällungsschwankungen, bei einzelnen Konzentrationen innerhalb eines weiten, sonst fällungsfreien Konzentrationsgebietes. Wenn bei den vorliegenden Versuchen gelegentlich solche atypische Flockungserscheinungen auftraten, so konnte man sich jedesmal überzeugen, daß sie auf zufälligen Verunreinigungen der hergestellten Gemische beruhten, und bei peinlichst sauberem Arbeiten absolut zu vermeiden sind.

Die zwei Grundphänomene, Fällbarkeit des Eiweißes durch positive und negative Kolloide und die Wirkung eines Über-

---

[1]) Diese Zeitschr. 27, 296, 1910.

[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 233, 1905.

schusses von anorganischem Lyokolloid in bezug auf eine Lösung der Flockung dürften dem Verständnis keine besonderen Schwierigkeiten bieten, denn die erste Tatsache steht in voller Übereinstimmung mit der großen Zahl von Beobachtungen, die die leichte Reaktionsfähigkeit des Eiweißes als amphotere Substanz evident machen. Auch der Mangel einer Überschußwirkung des Eiweißes auf die Kolloidflockung, die für die wechselseitige Fällung von anorganischen Kolloiden typisch ist, erscheint durchsichtig, da es sich bei den letzteren um die Bildung von neu aufgeladenen Komplexen, welche die Ladung des überschüssigen Kolloids tragen, handelt. Dagegen kommt einem genügend gereinigten Eiweiß eine elektronegative Ladung zu, die so gering ist, daß es praktisch als neutral betrachtet werden kann. Deshalb kann hier auch eine aufladende und damit stabilisierende Wirkung auf den Kolloidkomplex wohl durch das überschüssige Kolloid, nicht aber durch das Eiweiß erwartet werden.

In den weiteren Betrachtungen müssen die Erscheinungen bei den lyophoben Suspensoiden von denen mit lyophilen anorganischen Kolloiden scharf getrennt werden. Dabei wollen wir uns in einer Anzahl sehr wesentlicher Punkte ausschließlich auf die eigenen Beobachtungen stützen, weil nicht nur die Elektrolytfreiheit der von uns benützten Proteine tiefgreifende Unterschiede gegenüber den Ergebnissen der früheren Autoren schafft, sondern auch weil nähere Angaben über den Gehalt und die Stabilitätsgrenzen der Kolloide, sowie genauere Messungen der zugesetzten Elektrolytmengen beispielsweise in der am meisten in Betracht kommenden Arbeit Friedemanns fehlen. Ferner ist in der vorliegenden Arbeit zum erstenmal die Rolle von Säuren und Basen näher studiert.

Die in Abwesenheit von Elektrolyten beim Zusammenbringen von Eiweiß mit Suspensoiden, welche keinerlei Löslichkeit im Überschuß des Kolloids erkennen lassen, auftretenden Niederschläge erwiesen sich bei der Untersuchung vorwiegend als Koagula des Suspensoids. Daher wird die Frage nach dem Ursprung dieser Niederschläge zugleich zur Frage nach den Stabilitätsbedingungen des Suspensoids im elektrolytfreien Milieu. Wir konnten uns nun an sämtlichen der verwendeten Suspensoide überzeugen, daß deren fortgesetzte Dialyse ausnahmslos schließ-

lich zu einer irreversiblen Ausflockung führt. Diese Erfahrung steht durchaus im Einklange mit den Beobachtungen einer Reihe von Forschern über die Notwendigkeit einer gewissen, wenn auch kleinen Menge von Elektrolyten für den Bestand dieser Kolloide [Jordis[1]), Duclaux[2]), Lottermoser[3]) u. a.]. Da nun die bei Anwesenheit weitgehendst gereinigten Proteins auftretenden Kolloidniederschläge in ihrer Beschaffenheit den infolge Mangels der stabilisierenden Elektrolyte auftretenden irreversiblen Flockungen äußerlich ganz entsprechen, lag es nahe, vorerst an eine Entziehung dieser Elektrolytspuren durch das zugesetzte Protein[4]) zu denken. Diese Annahme fände in den zahlreichen Beobachtungen der letzten Jahre, die an diesem Institute gemacht wurden, eine Stütze, nach denen ein elektrolytfreies Eiweiß in Lösung mit neutralen Elektrolyten unter Bildung von Verbindungen adsorptionsartigen Charakters zu reagieren vermag.

Nach dieser Vorstellung könnte ein Zusatz von Neutralsalz durch seine Reaktion mit dem Eiweiß, dessen Adsorptionsaffinität für die dem Suspensoid anhaftenden Elektrolytbestandteile herabsetzen und auf diese Weise die Ausflockung durch Eiweiß hindern. Bei einer solchen Betrachtungsweise wäre die Suspensoidfällung in diesem Falle eine sekundäre oder indirekte Erscheinung. Die Rolle des Neutralsalzes erscheint aber auf diese Behinderung der Flockung durch das Eiweiß nicht beschränkt; es tritt noch ein weiterer Effekt hinzu, indem in der Kombination Suspensoid—Eiweiß—Salz nunmehr auch recht hohe, weit über dem Schwellenwert der Flockung des reinen Suspensoids gelegene Elektrolytzusätze keinerlei Koagulation hervorrufen. Dieser Fall stellt die eigentliche „Schutzwirkung" vor, wie sie zuerst von Zsigmondy beschrieben und technisch verwertet wurde. Bei dieser Gelegenheit sei darauf aufmerksam gemacht, daß der Ausdruck „Schutzkolloid" wenigstens beim Eiweiß nicht scharf genug den tatsächlichen Beobachtungen angepaßt erscheint, da es sich in Wirklichkeit um

---

[1]) Kolloid. Zeitschr. 2, 361, 1908; 3, 13, 153, 1908.

[2]) Journ. Chim. Physique 5, 29, 1907.

[3]) Journ. f. prakt. Chem. 2, 39, 72, 1905.

[4]) Das instabil gewordene Suspensoid würde dann unter Mitnahme kleiner Mengen Eiweiß ausfallen.

eine unerläßliche Mitwirkung der Elektrolyte bei dieser Schutzwirkung[1]) handelt.

Da die Aufnahme von Neutralsalz durch Eiweiß nach allen Versuchen am Institute eine sehr beschränkte ist, so ist es ausgeschlossen, daß für die Schutzwirkung gegen höhere Elektrolytkonzentrationen eine Ablenkung der Elektrolyte vom Suspensoid durch das anwesende Protein in Frage kommen kann. Wir müssen vielmehr im Gegensatze zu Billiter, der diese „Ablenkungstheorie" der Schutzwirkung aufgestellt hat, daran festhalten, daß eine wirkliche Kombination der Eiweißkörper mit den Suspensoiden die Ursache für die ganz bedeutende Stabilitätssteigerung der letzteren vorstellt. Dagegen möchten wir uns zugleich gegen die Vorstellung wenden, daß diese Komplexbildung gerade in der Art einer Einhüllung des Suspensoids durch das Schutzkolloid im Sinne von Bechhold erfolgen soll.

Eine nüchterne Betrachtung der zurzeit gegebenen Tatsachen läßt nur erkennen, daß für die Schutzwirkung eine Kombination des Suspensoids mit dem Eiweiß wesentlich ist, die Annahme dagegen, daß diese Komplexbildung gerade mittels einer Umhüllung durch das Schutzkolloid sich vollziehen soll, geht unbegründeterweise über das tatsächliche Material hinaus. Es ist das Verdienst Friedemanns trotz der Unvollkommenheit seiner Beobachtungen, die Mitwirkung der Elektrolyte bei dieser Schutzwirkung als einen wesentlichen Punkt erkannt zu haben, indem er die Sachlage folgendermaßen beschrieb: „Die Schutzwirkung der Eiweißkörper erscheint nur als ein Ausschnitt der Fällungskurve zwischen Eiweiß und Kolloid in salzhaltiger Lösung."

Diese Auffassung hat jedoch, vor allem durch den Einfluß der Umhüllungshypothese, bei den späteren Autoren kaum Beachtung gefunden. Nach den vorliegenden Untersuchungen kann an deren prinzipieller Richtigkeit kein Zweifel bestehen, und man könnte die Bedingungen für die Schutzwirkung auf anorganische Suspensoide kurz dahin präzisieren, daß ausschließlich eine Kombination des Proteins mit dem Neutralsalz zur Bildung von lösungsstabilen Komplexen mit dem anorganischen Suspensoid geeignet ist. Die nähere Natur dieser Aggregate von Kolloid—Eiweiß—Elektrolyt zu ergründen, muß noch wei-

---

[1]) Eine ausgedehnte Untersuchung an verschiedenen „Schutzkolloiden" ist im Gange.

teren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Es darf jedoch im Zusammenhange mit diesem Problem darauf hingewiesen werden, daß durch eine Reihe von Untersuchungen am Institute gerade die tiefgreifende Änderung der Stabilität des reinen Eiweißes durch Elektrolyte festgestellt wurde, die bei den hier in Betracht kommenden Konzentrationen derselben stets im Sinne einer unter Umständen ganz bedeutenden Stabilitätserhöhung zum Ausdruck kommt. So vermögen Elektrolyte nicht nur das Globulin in eine in wässeriger Lösung stabile Form überzuführen, sondern auch das reine Albumin in hohem Maße vor der Koagulation durch Hitze und Alkohol zu schützen.

Sämtliche neueren Untersuchungen am elektrolytfreien Eiweiß haben dargetan, daß dasselbe entsprechend seinem schwach sauren Charakter, neben elektrisch neutralen Teilchen eine merkliche Zahl elektronegativer Eiweißionen enthält, und die Studien über Kombination des ionischen Eiweißes mit Neutralsalzen haben gelehrt, daß es dabei zur Bildung neutraler Komplexe, wahrscheinlich unter Ringschluß, kommt, für welche das Schema gelten dürfte:

$$\mathrm{MeS} + \mathrm{R}\begin{cases}\mathrm{NH_2}\!<\!\begin{matrix}\mathrm{H}\\\mathrm{OH}\end{matrix}\\ \mathrm{COOH}\end{cases} \rightleftarrows \mathrm{R}\begin{cases}\mathrm{NH_2H.S}\\ \mathrm{COO.Me}\end{cases} + \mathrm{H_2O}$$

Daß jedoch die Beseitigung der Eiweißionen durch das Neutralsalz für die Schutzwirkung der Kombination Eiweiß—Salz nicht in Betracht kommen kann, lehren die vorliegenden Beobachtungen mit Säuren und Laugen, denen bei der Stabilisierung von Suspensoiden die gleiche Funktion wie dem Neutralsalz zuerkannt werden muß. Hier kommt es direkt zur Bildung von elektropositiven oder negativen Eiweißionen, so daß als allgemeine Regel hingestellt werden darf, daß sowohl das neutrale Salzioneneiweiß vom Typus $\mathrm{R}\begin{cases}\mathrm{NH_2S}\\ \mathrm{COOMe}\end{cases}$, als auch die Eiweißsalze $\mathrm{R}\begin{cases}\mathrm{NH_3.S}\\ \mathrm{COOH}\end{cases}$ oder $\mathrm{R}\begin{cases}\mathrm{NH_2}\\ \mathrm{COO.Me}\end{cases}$ zur Ausübung der Schutzwirkung befähigt erscheinen. In jüngster Zeit erschienene Untersuchungen von Mines[1]), in denen auf einem neuen Wege gezeigt wurde,

[1]) G. R. Mines, Kolloidchemische Beihefte 3, 191, 1912.

daß die Suspensoideiweißkombination in ihrem Verhalten gegen 2- und 3wertige Ionen mehr die Eigenschaften des Proteins als des Suspensoids hervortreten läßt, können gleichfalls nur als Stütze für die Annahme von Kolloideiweißkomplexen, in denen die Eigenschaften des Proteins dominieren, betrachtet werden, nicht aber, wie dieser Autor meint, als Beweis dafür dienen, daß diese Komplexbildung gerade in der Form einer Umhüllung sich vollzieht.

Während bei den anorganischen Supensoiden, wenn überhaupt, dann nur minimale Eiweißmengen, bei Abwesenheit von Elektrolyten mit dem Kolloid in Reaktion treten, sind die anorganischen Lyokolloide dadurch ausgezeichnet, daß sie mit sehr großen Proteinmengen auch bei Abwesenheit von Elektrolyten unter Bildung instabiler Komplexe reagieren können, wodurch sie unter passenden Umständen als quantitative Eiweißflockungsmittel wirken werden. Nach mannigfachen Analogien könnte für dieses Verhalten die chemische Grundlage darin gegeben sein, daß nicht nur die endständigen Amino- bzw. Karboxylgruppen des Proteins hier in Reaktion treten, wie das auch für die Beziehungen des Eiweiß zu Säuren und Laugen angenommen werden muß. Eine fernere Besonderheit gegenüber dem Verhalten der Suspensoide zeigen die Lyokolloide darin, daß im Überschuß des Kolloids Lösung der Flockung auftritt, eine Erscheinung, die vollständig analog ist den Wechselbeziehungen entgegengesetzt geladener anorganischer Kolloide, da es auch beim Eiweiß mit der Lösung der Flockung zur Bildung von Komplexen mit der Ladung des überschüssigen Kolloids kommt.

Zugleich läßt sich für das Verhalten von Eiweiß im Überschuß des Lyokolloids die Vorstellung von der Ähnlichkeit mit den Erscheinungen beim Säure- und Laugeneiweiß weiter festhalten. Denn wie die letzteren nach den Untersuchungen von Pauli und Handovsky[1]) unter Bildung dehydratisierter, instabilerer, schließlich irreversibler Komplexe mit Neutralsalzen reagieren, so gilt dies auch für das elektropositive und elektronegative Kolloideiweiß, das bei Salzzusatz zu mächtigen neutralen Flockungen Anlaß gibt.

[1]) Diese Zeitschr. 18, 340, 1909; 24, 239, 1910.

Tritt man aus dem Gebiete des überschüssigen Lyokolloids (III) durch die Zone maximaler Flockung (I) in das Gebiet überwiegenden Eiweißgehaltes (II), dann werden die Verhältnisse mit denen bei den anorganischen Suspensoiden übereinstimmend. In diesem Konzentrationsbereiche vermögen wiederum Neutralsalze die doppelte Schutzwirkung zu entfalten, indem sie in Konzentrationen unterhalb ihres Schwellenwertes (für das Lyokolloid) die Kolloideiweißflockung hemmen und bei steigendem Salzgehalte die Stabilität des Lyokolloids gegen den Elektrolytzusatz erkennen lassen. Nur die Beziehungen zu Laugen und Säuren sind hier geändert, abhängig von der elektrischen Ladung des Lyokolloids. Durchgehend besteht die Regel, daß Säuren die fällende Wirkung der positiven, Laugen die der negativen Lyokolloide hemmen. Ebenso besteht im allgemeinen die Tendenz, daß Laugen im Überschuß des positiven, Säuren im Überschuß des negativen Kolloids die Fällung begünstigen oder hervorrufen.

B. Schwermetallsalze und Eiweiß.

Die Beziehungen der Schwermetallsalze zu den Eiweißkörpern haben eine große Zahl älterer Forscher[1]) beschäftigt, die den Versuch machten, entweder über die unlöslichen Schwermetallsalz-Eiweißniederschläge zu chemisch gut charakterisierten Eiweißverbindungen zu gelangen, oder auf diesem Wege von allen Beimengungen befreite, reinste Eiweißkörper zu erhalten. Diese Ziele konnten in Wirklichkeit nicht erreicht werden, weil einheitliche, gut reproduzierbare Produkte nicht zu gewinnen waren. Wohl glaubten in jüngster Zeit Bonamartini und Lombardi[2]), ein einheitliches Cu-Albuminat dargestellt zu haben von 5,26 % Cu-, 8,07 % SO_4- und 86,67 % Albumingehalt. Diese Zahlenwerte werden als Mittel einer Reihe von Bestimmungen bei konstantem Albumin und wachsendem $CuSO_4$-Gehalt gewonnen und die Autoren kommen zu dem Schluß, daß die Zusammensetzung ihres Präparates von der reagierenden $CuSO_4$-Menge unabhängig sei. Allein die genauere Betrachtung ihrer Resultate zeigt, daß von zehn Werten der einen Reihe acht

---

[1]) Bezüglich dieser ausgebreiteten Literatur vergleiche Cohnheim, Chemie der Eiweißkörper, 3. Aufl., 1911.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 165, 1908.

ganz entsprechend der steigenden, zum (nicht gereinigten) Eieralbumin zugesetzten $CuSO_4$-Menge, auch einen Anstieg des in dem gewonnenen Cu-Albuminat enthaltenen Cu erkennen lassen. Die übrigen zwei aus der Reihe fallenden Zahlen dürften deshalb auf Analysenfehler zu beziehen sein. Auch in einer zweiten Versuchsserie von fünf Analysen besteht bis auf einen Wert durchwegs das ansteigende Verhältnis der vom Eiweiß aufgenommenen Cu-Menge mit Zunahme des in Reaktion gebrachten $CuSO_4$, so daß von einer Konstanz der Zusammensetzung, wie dies die Autoren und die sie später zitierenden Forscher tun, nicht gesprochen werden kann.

Eine kurze Betrachtung sei noch einer nach experimentellem Abschluß dieser Arbeit in ihren Hauptpunkten erschienenen Untersuchung von F. Lippich[1]) über die Zinksulfatfällung von Eiweiß gewidmet. Methodisch bewegt sich diese Arbeit Lippichs im Geleise ihrer Vorgänger. Sie bringt qualitative Fällungsreihen und drei quantitative Serienversuche über Verteilung von Zink auf Filtrat und Eiweißniederschlag. Es wird kein gereinigtes Eiweiß, sondern natives Serum verwendet, das Metall im Filtrat bestimmt und die Schätzung der Zusammensetzung des Niederschlages indirekt durch Berechnung ausgeführt. Die drei mitgeteilten Analysenreihen, von denen die erste ca. 0,8%, die zweite ca. 0,6%, die dritte 0,4% Eiweiß betrifft, scheinen uns nicht gleichwertig zu sein. Die zweite und dritte zeigt typischen Adsorptionscharakter, die erste keinen ausgesprochenen Gang der gefundenen Werte. Sie ist leider, trotz ihrer Sonderstellung, nicht reproduziert worden, so daß bei der klippenreichen Methodik, insbesondere in den ersten Versuchen, Analysenfehler und bei dem höheren Eiweißgehalt stärkerer Neutralsalzeinfluß nicht ausgeschlossen sind. Jedenfalls kann unter solchen Umständen diese einzige Versuchsreihe nicht gut zur Grundlage einer theoretischen Analyse der Schwermetalleiweißbeziehungen gemacht werden, gegenüber dem sonstigen überwältigenden Versuchsmaterial, das im Sinne von adsorptionsartigen Verbindungen in der ersten Zone der Schwermetalleiweißfällung vorliegt.

Neben diesem experimentellen Material nehmen in der Arbeit Lippichs allgemeine Betrachtungen einen breiten Raum ein,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 361, 1911.

die mit dessen tatsächlichen Funden in keinem zwingenden Zusammenhange stehen, jedoch mit den in den letzten sechs Jahren in der physiko-chemischen Forschung der Proteine herrschenden Anschauungen in Übereinstimmung sind[1]).

Sollte von neuem mit Aussicht auf Erfolg der Versuch unternommen werden, die Frage der Schwermetallsalzeiweißbeziehungen zu fördern und dem Bereiche von, wenn auch noch so plausiblen, Hypothesen zu entrücken, dann erschien es notwendig, zunächst mit den Behelfen der physikalischen Chemie den Vorgang bei der Schwermetallsalzeiweißfällung einer sorgfältigen Analyse zu unterziehen, um die Bedingungen beim Auftreten dieser Proteinverbindungen näher kennen zu lernen.

---

[1]) Die polemischen Ausführungen des Autors gegen eine einseitig kolloidchemische Betrachtung der Zustandsänderungen der Eiweißkörper dürften einer gewissen Fremdheit gegenüber dem Gange der Entwicklung dieses Gebietes entspringen. W. B. Hardy (Journ. of physiol. 24, 288) hat im Jahre 1899 zuerst die Verhältnisse bei den Proteinen mit denen bei anorganischen Kolloiden weitgehend in Analogie gebracht. Pauli hat im gleichen Jahre zum ersten Male die Beziehungen von Eiweiß (Globulin) zu Salzen aus der Aminosäurestruktur abgeleitet und Hardy entgegnend auf den chemischen Standpunkt verwiesen (Arch. f. d. ges. Physiol. 78, 317, 1899). Im Jahre 1905 hat dann Hardy in seiner grundlegenden Untersuchung über das Globulin sich zu einer überwiegend chemischen Auffassung bekannt, die von Pauli und seinen Mitarbeitern am Albumin und Glutin, von Robertson am Casein weiter ausgeführt wurde. Robertson hat für sich niemals, wie ihm dies Lippich zuschreibt, die Priorität in der Erkenntnis von der Bedeutung der komplexen Aminosäurenatur für die Eiweißreaktionen in Anspruch nehmen können und genommen.

Der Begriff Adsorptionsverbindung kann chemisch zu keinen Bedenken Anlaß geben, wenn er in der von Pauli und Handovsky (diese Zeitschr. 18, 365, 1909) näher angegebenen Weise als Ausdruck einer formal bestimmten Gleichgewichtsbeziehung unabhängig von den dabei wirkenden Kräften betrachtet wird. Daß die Zusammenfassung der Adsorptionsverbindungen zu einer Gruppe eine systematische Bedeutung hat, darf trotz der Kritik Robertsons behauptet werden.

Es dürfte kaum irgendwo Zustimmung finden, daß ein Autor seine allgemeine Auffassung einer Frage, die sich mit der in einem reich bearbeiteten Gebiete seit sechs Jahren herrschenden so gut wie vollständig deckt, als eine selbständige bezeichnet. Darüber kann auch nicht eine gelegentliche Bemerkung in einer Fußnote hinweghelfen, die darauf hinweist, daß die Annahme der amphoteren Elektrolytnatur der Eiweißkörper verschiedene Autoren zu ähnlichen Anschauungen führen wird.

Unsere Versuche bilden die natürliche Fortsetzung der Arbeiten von Galeotti[1]) und Pauli[2]) über die Schwermetalleiweißfällung. Galeotti versuchte unter Anwendung der Phasenlehre durch Analyse der miteinander im Gleichgewicht stehenden flüssigen und festen Phase zu einem Überblick über die Eigenschaften dieses Systems zu gelangen. Dieser Versuch, der wohl eine Übersicht über die bei verschiedener Konzentration herrschende Verteilung der Komponenten und die Bedingungen für das Auftreten einer festen Phase gewährt, läßt jedoch die Frage offen, wie das Zustandekommen von Fällungs- und Lösungsphänomenen im einzelnen zu verstehen sei, da in Wirklichkeit noch neben der Frage fest oder flüssig der Aufbau der einzelnen Komponenten zu erforschen bleibt.

In der Tat haben die folgenden Untersuchungen von Pauli[3]) gezeigt, daß die bei verschiedenen Konzentrationen des Schwermetallsalzes auftretenden Fällungen einen durchaus verschiedenen Entstehungsmechanismus und dementsprechend einen ganz verschiedenen Aufbau aufweisen müssen, der einer rein analytischen Untersuchung nicht einfach entnommen werden kann.

Im allgemeinen lassen die Schwermetallsalze zwei Fällungszonen erkennen, eine bei sehr niederen Konzentrationen 0,0001 n und darüber, und eine bei hohen Konzentrationen, die bis zu Vielfachen einer normalen Konzentration reichen. Diese zwei Fällungszonen erscheinen meistens durch ein mehr oder weniger breites Konzentrationsgebiet getrennt, in dem keine Flockung auftritt, eine Erscheinung, die von Bechhold, Neißer und Friedemann[4]) mit dem keineswegs angemessenen Namen „unregelmäßige Reihe" bezeichnet worden ist. Die nähere Untersuchung hat gelehrt, daß sicherlich bei einer großen Anzahl dieser Salze die erste Flockung in der niederen Salzkonzentration als eine Funktion des hydrolytisch abgespaltenen Metallhydroxyds dargestellt werden kann und demgemäß durch einen irreversiblen Charakter bei der Verdünnung ausgezeichnet ist. Über das Zustandekommen der Wiederlösung dieser Flockung mit steigender Konzentration des Salzes liegt jedoch keine experimentell fun-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 492, 1904.
[2]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 233, 1905.
[3]) l. c.
[4]) l. c.

dierte Erklärung vor, da die Entscheidung darüber, ob bei dieser Lösung ein Überschuß des Metallhydroxyds, ein Wirksamwerden der hydrolytisch abgespaltenen Säure oder die Salzionen in Betracht kommen, offen bleiben mußte. Dagegen konnte die neuerliche Fällung in hohen Salzkonzentrationen, wenigstens für das $ZnSO_4$ mit der typischen Neutralsalzflockung des Eiweißes, die gerade den Sulfaten in hohem Maße eigen ist, in Zusammenhang gebracht werden.

Alle diese Versuche betrafen ein natives, salzhaltiges Eiweiß.

Die vorliegende Untersuchung stellte sich die Aufgabe, eine Reihe der hier noch offen gebliebenen Fragen, vor allem durch Verwendung von sorgfältig gereinigtem Protein und Benützung der bei der Untersuchung von Säure- und Alkalieiweiß am Institut ausgebildeten physiko-chemischen Methoden womöglich aufzuklären.

Für die Anschauung, daß bei den in niederen Konzentrationen hydrolytisch weitgehend dissoziierten Schwermetallsalzen in der Tat die Fällung durch das vorhandene Metallhydroxyd vermittelt wird, kann, gestützt auf die jetzigen Erfahrungen, zu den älteren Argumenten — irreversibler Charakter, praktischer Unbegrenztheit der Fällung bei abnehmendem Salzgehalt —, noch eine Reihe weiterer hinzugefügt werden. Zunächst ist das Verhalten gegen Salz identisch mit dem im ersten Teile angeführten, bei Zusatz von kolloidem Metallhydroxyd. Ferner ist die Schwermetallsalzflockung von elektrolytfreiem Eiweiß ebenso wie die durch das Metallhydroxyd im Überschuß des Proteins unlöslich.

Dagegen treten bei Überschuß von Eiweiß und niederen Schwermetallkonzentrationen, wie dies zunächst Wo. Pauli in der angeführten Arbeit näher festgestellt hat, bei Zugabe von Neutralsalz Hemmungswirkungen gegen die Ausflockung auf, die vollständig der an der Kombination Metallhydroxyd-Eiweiß beobachteten Schutzwirkung in Anwesenheit von Elektrolyten entsprechen. Schließlich ergab die Untersuchung der Schwermetallsalzeiweißflockung mittels Dialyse in niederen Salzkonzentrationen das Fehlen von Fe-Ionen neben reichlicher Anwesenheit von Cl-Ionen der Salzsäure in der Außenflüssigkeit. Man darf deshalb die von Bechhold, Neißer und Friedemann zuerst vermutete, von Pauli näher begründete Auffassung, daß die Schwermetallsalze in niederen Konzentrationen wahr-

scheinlich durch das abgespaltene Metallhydroxyd zur Bildung einer unlöslichen Verbindung von Schwermetalleiweiß Veranlassung geben, durch die vorliegenden Beobachtungen als bekräftigt ansehen.

Es wäre hier im Zusammenhange die Frage zu erörtern, welche Rolle die neben dem Metallhydroxyd vorhandene freie Säure bei diesem Vorgang spielt. Durch die Beobachtungen am kolloiden Metallhydroxyd erscheint festgestellt, daß Säure im Überschuß die Eiweißfällung zu verhindern vermag, so daß man direkt von einer Konkurrenz der Säure und des basischen Metallhydroxyds um das Eiweiß, das im ersten Falle mit seinen basischen, im zweiten Falle mit seinen sauren Valenzen reagiert, sprechen kann. In diesem Wettstreit erscheint die Säure nur bei genügendem Überschuß siegreich und es bedarf deshalb der Erklärung, weshalb in äquivalenten Konzentrationen von Säure und Hydroxyd, das Hydroxyd beim Albumin sich als überlegen erweist. Hier muß nun vor allem der Umstand berücksichtigt werden, daß, wie aus sämtlichen Untersuchungen der neueren Zeit über die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Albumins und seine Beziehungen zu Säuren und Laugen hervorgeht, die Säuredissoziationskonstante desselben die Basendissoziationskonstante weit übertrifft. Die Folge davon wird sein, daß dessen Verbindungen mit Säure in weit stärkerem Maße der hydrolytischen Dissoziation unterliegen werden, oder mit anderen Worten die Verbindungen, in denen Eiweiß als Säure funktioniert, ceteris paribus von größerer Festigkeit sein werden. Bei der Einwirkung äquivalenter Mengen von Metallhydroxyd und Säure in geringen Konzentrationen wird also die Säure größtenteils hydrolytisch in Freiheit gesetzt zugegen sein, womit alle oben angeführten Beobachtungen in Einklang stehen.

Es kann hier ferner der folgende Umstand in Betracht kommen. Die Reaktion des Eiweißes mit dem Metallhydroxyd wird wahrscheinlich unter Wasseraustritt erfolgen. Wir wissen nun von den Reaktionen der Aminosäuren mit Schwermetallen, daß sie zu kaum ionisierten Salzen führen, die nach den schönen Untersuchungen von H. Ley die folgende Struktur besitzen dürften:

$$R\langle{}^{NH_2}_{COO}\rangle Me,$$

wobei die Verkettung des Metalles teils durch Haupt-, teils durch Nebenvalenzen stattfindet. Mutatis mutandis könnten die Dinge beim Schwermetallprotein analog liegen. Eine Sprengung der durch die Nebenvalenz vermittelten cyclischen Bindung, auf der das Verhalten als „inneres Komplexsalz", also mangelnde Ionisation, geringe Löslichkeit usw., beruht, wäre jedoch erst bei Anwesenheit größerer Säuremengen möglich. Je mehr Schwermetallionen in ein Eiweißmolekül eingetreten sind, desto größer müßte naturgemäß die zur Sprengung der Bindungen nötige Säuremenge sein. Da die Aminogruppe auch Neutralsalz zu addieren vermag, so könnte unter Umständen Neutralsalz, ähnlich wie Säure, die Verbindung von Metall und Stickstoff durch Nebenvalenzen aufheben und zu löslichen Komplexen führen (Schutzwirkung).

Bei der Untersuchung der Beziehungen von Gelatine zu kolloidem Metallhydroxyd hat es sich gezeigt, daß das Glutin in viel höherem Grade gegen Säure empfindlich ist als das Albumin, indem schon geringe Mengen (0,001 n) Säure ausreichen, um seine Reaktionsfähigkeit mit dem Metallhydroxyd aufzuheben, wie die folgende Nebeneinanderstellung zeigt:

Tabelle A.

Kolloides $Fe(OH)_3$ und Albumin.

$Fe(OH)_3$ %	Albumin %	·/·	+0,001 n HCl
0,220	1,174	+++	+++
0,165	1,174	+++	+++
0,132	1,174	+++	+++
0,110	1,174	+++	+++
0,096	1,174	++—	++—
0,082	1,174	++—	++—
0,073	1,174	++—	++—
0,066	1,174	++—	——

Kolloides $Fe(OH)_3$ + Gelatine.

$Fe(OH)_3$ %	Gelatine %	·/·	+0,001 n HCl
0,220	0,500	+++	——
0,165	0,500	+++	——
0,132	0,500	+++	——
0,110	0,500	+++	——
0,096	0,500	+++	——
0,082	0,500	++—	——
0,073	0,500	++—	——
0,066	0,500	++—	——

Dieses Verhalten des Glutins wird auch durch seinen chemischen Aufbau unserem Verständnis näher gerückt, denn seine gesteigerte Reaktionsfähigkeit als Base steht in gutem Einklang mit der bekannten Tatsache, daß ihm die den sauren Charakter bedeutend steigernde aromatische Gruppe abgeht. Außerdem fanden Obermayer und Wilheim[1]), daß die durch Formol-

[1]) Diese Zeitschr. 38, 331, 1912.

behandlung in Freiheit gesetzten sauren Gruppen (Carboxyl) nur etwa ein Drittel der beim Albumin wirksam gemachten betragen[1]). Die vorliegenden Beobachtungen über die Nichtfällbarkeit des Glutins durch Metallhydroxyd bei Anwesenheit von Säure werfen somit ein Licht auf die geläufige Erfahrung, daß dem Glutin die Fällbarkeit durch Schwermetallsalze abgeht[2]), zugleich aber bildet dieses Verhalten eine gute Stütze für die Anschauung, daß die Fällung durch niedere Konzentrationen von hydrolytisch stark dissoziierenden Schwermetallsalzen eine Funktion des vorhandenen Metallhydroxyds ist.

Die weiteren Untersuchungen waren der Frage nach der Ursache der Wiederlösung der Eiweißfällung in höheren Konzentrationen des Schwermetallsalzes gewidmet. Zu diesem Zwecke wurden die Verhältnisse an dem Beispiele des $FeCl_3$ genauer durchgearbeitet. Es fand sich, wie die folgende Tabelle zeigt, für das reinste Eiweiß von 0,808 % bei den angegebenen $FeCl_3$-Konzentrationen Fällung bzw. Lösung:

Tabelle B.

Normalität des $FeCl_3$	Fällung	Normalität des $FeCl_3$	Fällung
0,001	+++	0,5	———
0,002	+++	1,0	—±—
0,005	———	1,5	++—
0,01	———	2,0	+++
0,05	———	3,0	+++
0,1	———		

In dieser Reihe tritt bei dem Albumin, von der $FeCl_3$-Konzentration 0,005 n angefangen, Wiederauflösung des Eiweißniederschlages ein und erst bei 1 n-$FeCl_3$ beginnt eine neuerliche Flockungszone. Nach den zahlreichen Beobachtungen am Institute über die Lösungsstabilität des ionischen Eiweißes lag es nahe anzunehmen, daß die Wiederauflösung des Proteins mit der Bildung eines elektrisch geladenen Eiweißkomplexes im Zusammenhange stehe. Und da die angeführten Beobachtungen

[1]) Mündliche Mitteilung.

[2]) Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, daß Gelatine, die durch starke Mineralsäuren unfällbar ist, durch 2 bis 3 n-Trichloressigsäure gefällt wird. Die Fällung ist im Überschuß der Säure und bei Verdünnung reversibel, kann aber als Schichtprobe gute Dienste leisten.

gezeigt hatten, daß der Ionisation von Eiweiß im allgemeinen, regelmäßig eine Steigerung der Hydratation, kenntlich an dem mächtigen Anstieg der Viscosität und der Unwirksamkeit dehydratisierender Maßnahmen, wie Alkoholfällbarkeit und Hitzekoagulierbarkeit, entspricht, so waren die nächsten Bemühungen auf den Nachweis dieser Hydratation gerichtet. Dabei konnte auch hier, wie im ersten Teile der Arbeit, der Parallelismus mit dem Säureeiweiß als leitendes Prinzip verwendet werden.

Beim Säureeiweiß ist durch die Untersuchungen von Pauli und Handovsky[1]) und Schorr[2]) gezeigt worden, daß der mit steigendem Säurezusatz erfolgenden Bildung ionischen Eiweißes zunächst ein Reibungsanstieg entspricht, der ein Maximum erreicht, sobald die die Ionisation begleitenden Hydratation vollendet ist. Weiterer Säurezusatz bewirkt, wie bei der Wechselwirkung gemeinioniger Elektrolyte, eine Zurückdrängung der Ionisation unter Bildung elektrisch neutraler Teilchen. Der durch den Reibungsabfall angezeigten Vermehrung der Neutralteilchen entspricht zugleich die Wiederkehr der Alkoholfällbarkeit. Die gleichen Verhältnisse, also erst Reibungsanstieg, dann Maximum und Abfall konnten auch in der Zone der Wiederlösung der Schwermetallsalzfällung nachgewiesen werden.

Viscositätsmessungen.

Methodik: Zur Bestimmung der inneren Reibung diente die im Institute für die Untersuchung der Eiweißlösungen ausgearbeitete Methode von Ostwald. Die Messungen wurden bei 25° ± 0,02° im durchsichtigen Thermostaten vorgenommen. Das spezifische Gewicht wurde mit Hilfe des Sprengel-Ostwaldschen Pyknometers bei derselben Temperatur bestimmt. Die Reibungswerte der einzelnen Komponenten der Eiweiß-Salzmischung wurden gesondert festgestellt und dann die beobachteten mit den aus der Reibung der einzelnen Komponenten berechneten Werten verglichen. Angegeben sind als die relativen Reibungskoeffizienten, die nach der Formel $\eta = \frac{s}{s_0} \cdot \frac{t}{t_0}$ gerechnet sind, und die zugehörigen $FeCl_3$-Konzentrationen. In der Differenzkurve sind die Unterschiede der wirklich gefundenen (η) und der unter Annahme der Additivität der Reibungen der Komponenten berechneten Werte (η') benutzt. In diesen Versuchen wurden die Eiweißmengen konstant gehalten.

[1]) l. c.

[2]) Diese Zeitschr. 37, 424, 1911.

Tabelle C.

1. Eiweißgehalt konstant 1,174 %. Steigende Mengen $FeCl_3$. Wasserwert $\eta_0 = 1,000$. Für 1,174 % Eiweiß $\eta = 1,0358$, für 0,4 n-$FeCl_3$ $\eta = 1,0628$, für 0,3 n-$FeCl_3$ $\eta = 1,0470$. (Fig. 1.)

Normalität des $FeCl_3$	η' berechnet	η gefunden	Differenz
0,0033	1,0364	1,0380	0,0016
0,0044	1,0365	1,0422	0,0057
0,0057	1,0370	1,0508	0,0138
0,0080	1,0373	1,0831	0,0458
0,0133	1,0380	1,1154	0,0774
0,020	1,0390	1,1135	0,0745
0,040	1,0422	1,0994	0,0572
0,080	1,0485	1,0829	0,0344
0,200	1,0670	1,0795	0,0125
0,300	1,0830	1,0910	0,0080

2. Eiweißgehalt konstant 0,808 %. 0,808 % Eiweiß $\eta = 1,0428$, 0,0715 n-$FeCl_3$ $\eta = 1,0220$. (Fig. 2.)

Normalität des $FeCl_3$	η' berechnet	η gefunden	Differenz
0,0025	1,0430	1,0470	0,0040
0,0050	1,0440	1,0641	0,0201
0,0055	1,0443	1,0727	0,0284
0,0062	1,0445	1,0770	0,0325
0,0083	1,0450	1,1025	0,0575
0,0125	1,0465	1,1453	0,0988
0,0500	1,0580	1,1260	0,0680
0,0555	1,0595	1,124	0,0529
0,0715	1,0645	1,1154	0,0509

Die Versuche zeigen, daß in der Zone der klaren Lösung von Schwermetallsalzeiweiß ein Reibungsmaximum auftritt. Form und Verlauf der Kurve stimmen interessanterweise durchaus zu den Beobachtungen am Säureeiweiß, indem einem jähen Anstieg auf der einen Seite ein allmählicher Abfall auf der anderen entspricht. Schon durch diese Kurve der Hydratation ist wahrscheinlich gemacht, daß in der Zone der Lösung der Proteinfällung zunächst Ionisation oder elektrische Ladung des Eiweißkomplexes erfolgt mit nachfolgender Zurückdrängung der Ionisation im Überschuß des Salzes. Das Reibungsmaximum entspricht für ein Albumin von 1,174 % einer $FeCl_3$-Konzentration von 0,0183 n, während eine Lösung mit dem Albumingehalt

0,808 % eine Verschiebung des Maximums in die Konzentration 0,0125 n-$FeCl_3$ erkennen läßt. Die Höhe des maximalen Reibungswertes hängt nicht nur vom Eiweißgehalt, sondern auch in hohem Maße, wie dies für das Säureeiweiß in der Arbeit von Pauli und Handovsky[1]) näher untersucht wurde, auch

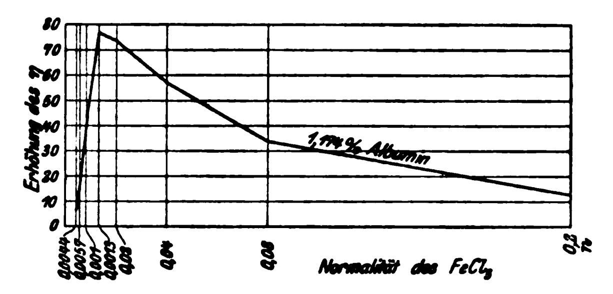


Fig. 1.

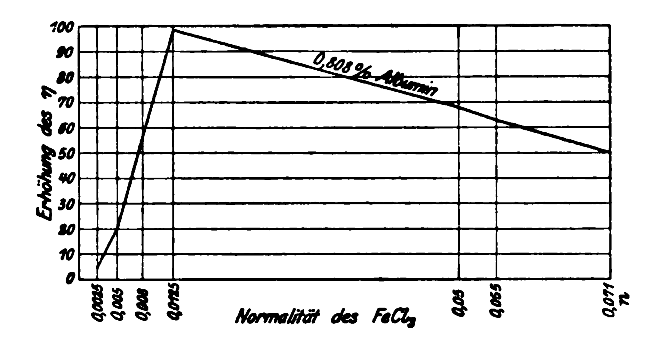


Fig. 2.

hier vom Elektrolytgehalt ab, wobei Spuren schon sehr merklich werden. In der Tat enthielt das durch die niedrigeren Reibungswerte (Tabelle C 1.) charakterisierte Serum noch merklich Elektrolyte, es kam auch in den weiteren Versuchen nicht in Verwendung.

Die durch die Reibungskurve angezeigten Hydratationsänderungen fanden auch in Alkoholkoagulationsversuchen ihren parallelen Ausdruck, wie die folgende Tabelle zeigt:

---

[1]) l. c.

Tabelle D.

Alkoholfällbarkeit nach 24 Stunden beobachtet.

0,808 % Eiweiß + $FeCl_3$	Nach Zusatz der fünffachen Menge abs. Alkohol
0,0025	Geringe Fällung in trüber Flüssigkeit
0,0050	Starke Trübung ohne Fällung
0,0055	Geringe Trübung ohne Fällung
0,0062	Keine Fällung, klare Flüssigkeit
0,0083	" " " "
0,0125	" " " "
0,0500	" " " "
0,0555	" " " "
0,0715	" " " "
0,5	Starke Fällung in trüber Flüssigkeit

Mit ansteigender Reibung verliert die Schwermetallsalzeiweißlösung ihre Alkoholkoagulierbarkeit, die erst mit Abfall der Viscosität wiederkehrt.

War nun durch die Versuche zur Erkennung der Hydratationsverhältnisse, schon nach den früheren Erfahrungen, wahrscheinlich gemacht, daß die Wiederlösung der Schwermetallsalzeiweißfällung mit einer Bildung elektrisch geladener Komplexe verknüpft ist, so wurde diese Annahme durch die direkte elektrische Untersuchung zur Gewißheit erhoben. Zu diesem Zwecke wurden zunächst Bestimmungen der elektrischen Leitfähigkeit der Kombination von Eiweiß und $FeCl_3$ vorgenommen und die gefundenen Werte mit denen einer reinen $FeCl_3$-Lösung verglichen. Die Leitfähigkeit der Eiweißlösungen stimmt, wie Versuche ergaben, vollständig mit der des destillierten Laboratoriumwassers überein.

Als Methode diente das Kohlrauschsche Verfahren mit Widerstandsgefäßen von passender Kapazität, die stets sorgfältig kontrolliert wurde. Zur Vermeidung von Adsorption an den Pt-Elektroden waren dieselben nach der Platinierung, dem Vorschlage Wethams folgend, schwach geglüht worden. Die Temperatur im Thermostaten, in dem die Flüssigkeit bis zur Temperaturkonstanz vorgewärmt wurde, betrug $25^\circ \pm 0{,}02^\circ$. Sämtliche Messungen sind auf 1 mm des Brückendrahtes reproduziert.

Zunächst zeigen, wie dies zu erwarten war, sämtliche Werte der Kombination $FeCl_3$-Eiweiß eine Erniedrigung gegenüber den reinen $FeCl_3$-Leitfähigkeiten, da hier die leichter beweglichen Salzionen durch Bindung an den großen Proteinkomplex an Be-

Tabelle E.

Eiweiß konstant 0,808 %. (Fig. 3.)

Normalität des $FeCl_3$	Leitfähigkeit des $FeCl_3$	Leitfähigkeit des Serums + $FeCl_3$	Differenz
0,0025	0,00049	0,00017	0,00032
0,0050	0,00068	0,00029	0,00039
0,0062	0,00088	0,00034	0,00054
0,0083	0,00110	0,00044	0,00066
0,0125	0,00146	0,00067	0,00079
0,0500	0,00431	0,00338	0,00093
0,0555	0,00463	0,00379	0,00084
0,0715	0,00571	0,00486	0,00085

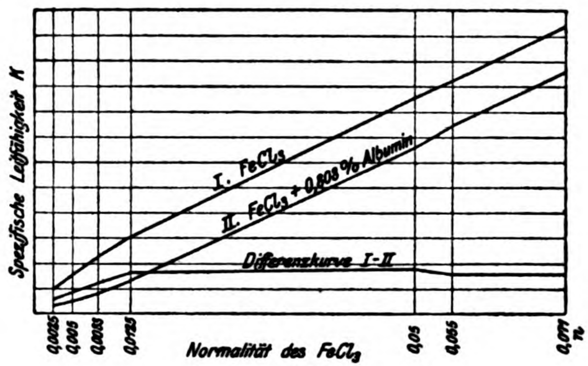


Fig. 3.

weglichkeit einbüßen. Diese Differenz mußte, solange eine solche Bindung erfolgt, wachsen, um mit Beendigung der Reaktion zwischen Eiweiß und Salz nahezu konstant zu werden. Daß dem wirklich so ist, zeigt die Differenzkurve zwischen den Leitfähigkeiten der Kombination und des reinen Salzes. Diese Kurve steigt bis zu der Konzentration, die dem Maximum der Reibung entspricht, schön an, um von da an nur sehr schwach noch zuzunehmen und schließlich nahe konstant zu bleiben. Nach diesem Verlaufe verschwinden also aus der Lösung durch Eiweißzusatz gut leitende Ionen, und zwar bis zum Hydratationsmaximum in einem weit höheren Maße als nach demselben.

Es bedurfte nunmehr der Feststellung, in welcher Weise der Metall(hydroxyd)eiweißkomplex mit den Ionen des Salzes unter Bildung einer ionisierten, löslichen Kombination in Verbindung tritt. Abgesehen von allgemeinen chemischen Gründen bot schon das Aussehen der Schwermetallsalzeiweißlösung einen

gewissen Anhaltspunkt. Dieselbe erscheint verglichen mit $FeCl_3$ Lösungen entsprechender Konzentration von einer gesättigten, rotgelben Färbung, die darauf hindeutete, daß das Fe-Ion in den Komplex Metallhydroxyd-Protein unter Bildung eines intensiver gefärbten komplexen Ions eintritt. Daß nun die Ent stehung elektropositiver Komplexe bis zu einem gewissen Maximum, entsprechend dem Höhepunkt der Reibungskurve, erfolgt, konnte unmittelbar mit Hilfe der elektrischen Überführungsmethode zur Gewißheit erhoben werden. Da es sich dabei um einen Vergleich der überführten Mengen handelt, muß hier auf die Einzelheiten der Versuchsanordnung eingegangen werden.

Methodik: Zum Zwecke der Untersuchung der Elektrophorese diente der von Landsteiner und Pauli angegebene Apparat, der im wesentlichen aus einem durch einen Hahn in der Mitte jedes Schenkels abgeteilten U-Rohr besteht. Nahe den Öffnungen der Schenkel des U-Rohres münden zwei seitlich angesetzte, halb so hohe, ebenso weite U-Röhren, die in ihrem offenen Schenkel die Elektroden tragen und eine verschließbare Kommunikation an ihren tiefsten Punkten zum Ausgleich der hydrostatischen Differenz besitzen. In den unteren Teil der mittleren U-Röhre kommt die zu prüfende Eiweißmischung, darauf werden die Hähne geschlossen und der übrige Teil des ganzen Röhrensystems mit der zuleitenden Flüssigkeit gefüllt. Um die Einwirkung von elektrolytischen Produkten auf die Grenzschichten der Kolloidlösung hintanzuhalten, die ohnehin durch die große Entfernung der Pole von demselben sehr reduziert ist, wurden überdies, wie dies Michaelis vorgeschlagen, unpolarisierbare Elektroden verwendet (Ag in $AgNO_3$). Zwischen die $AgNO_3$-Lösung und die Kolloidflüssigkeit wurde eine NH_4NO_3-Lösung eingeschaltet, die den Vorteil besitzt, zu keinen Diffusionspotentialen Anlaß zu geben. Um nun in dem ganzen System größere Potentialsprünge zu vermeiden, wurden stets sämtliche Lösungen in einer der verwendeten $FeCl_3$-Konzentration äquivalenten Konzentration verwendet. Das angewendete Potential an den Polen betrug 40 Volt, die Durchströmungsdauer $1^1/_4$ Stunden. Bei Einhaltung dieser Bedingungen konnten Unregelmäßigkeiten in den Versuchsresultaten leicht vermieden werden, so daß sich die Werte als gut reproduzierbar erwiesen. Nach entsprechender Füllung des Apparates und hydrostatischem Druckausgleich werden die Hähne im mittleren U-Rohr geöffnet, die Kommunikation der seitlichen U-Rohre aufgehoben und der durch Meßinstrumente kontrollierte Strom geschlossen. Man sieht nun in der Richtung zur Kathode eine durch ihre Färbung scharf abgesetzte Flüssigkeitssäule sich über dem einen Hahn erheben und kann die über führte Menge durch die Messung der Höhe dieser Säule über einer an gebrachten Marke sehr gut bestimmen.

Ausdrücklich sei hervorgehoben, daß diese Versuchsanordnung keineswegs für die direkte Bestimmung von Ionenbeweglichkeiten dienen sollte, jedoch in zweifacher Hinsicht sicher beweisend erscheint: Erstens für das Vorzeichen der Ladung des gefärbten Komplexes und zweitens im Falle einer Abnahme der überführten Menge trotz ansteigender Stromstärke. Wie nun die Kurve (Fig. 4), die als Ordinate die Höhe der in der gleichen Zeit gewanderten Flüssigkeitssäule enthält, erkennen läßt, wächst die überführte Menge sehr rasch bis zum Reibungsmaximum, um dann allmählich bis zum Ausgangswert zu sinken und schließlich konstant zu werden. Sie entspricht somit durchaus in ihrem Verlauf den Beobachtungen über die Viscosität und die Leitfähigkeit.

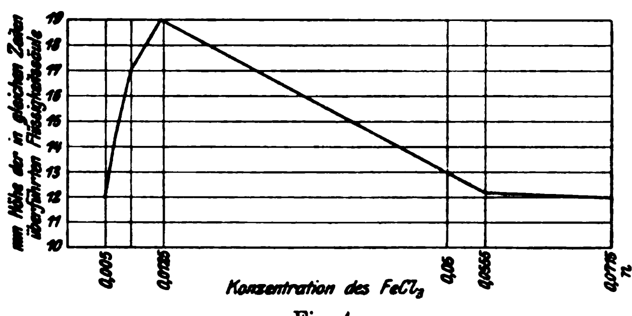


Fig. 4.

Man darf deshalb mit Sicherheit aussagen, daß der bei der Wiederauflösung der Schwermetallsalzeiweißfällung durch Zusatz von $FeCl_3$ entstandene Komplex farbige Ionen mit elektropositiver Ladung bildet, die, wie eine Prüfung auf Eiweiß auf beiden Seiten der Röhre zeigte, zugleich das Protein enthalten. Im Überschuß des Metallsalzes wird die Zahl dieser geladenen Komplexe wieder vermindert. Die Bildung dieser Ionen geht parallel mit der durch die Reibungskurve angezeigten Hydratationssteigerung, ihre Verminderung im Überschuß des Salzes der durch den Reibungsabfall angezeigten Dehydratation.

Nach diesen übereinstimmenden Befunden darf wohl die Annahme als gesichert gelten, daß der Reaktion der Schwermetalleiweißverbindung im Überschuß des Salzes die folgende Gleichung am besten entspricht:

$$[x\mathrm{Fe(OH)_3} \cdot \mathrm{Protein}] + y\,\mathrm{FeCl_3} = [x\,\mathrm{Fe(OH)_3} \cdot \mathrm{Protein}]y\,\mathrm{Fe} + 3y\,\mathrm{Cl}.$$

Es lag nach diesen Ergebnissen nahe, noch auf einem direkten Wege die Bildung des komplexen Fe-Eiweißsalzes nachzuweisen.

Wenn die hier vorgetragene Auffassung richtig ist, so müßte in jenen Konzentrationen, in denen nach den Reibungs- und elektrischen Messungen das vorhandene Ferri-Ion bei der Komplexbildung verbraucht wird, die Reaktion auf freies $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$-Ion verschwinden und erst nach Beendigung der Bindung wieder auftreten. Auch diese Voraussetzung konnte durch das Experiment verifiziert werden. Zu diesem Zwecke wurden, wie dies in der folgenden Tabelle illustriert ist, die Rhodan-, Phenol- und Berlinerblau-Reaktionen verwendet.

Tabelle F.

Konstante Eiweißmenge 0,808 %.

0,808 % Eiweiß + $FeCl_3$	+ NH_4SCN	+ C_6H_5OH	+ $K_4Fe(CN)_6$
0,0025	gelbe Flüssigkeit, keine Rotfärbung	gelbe Flüssigkeit, keine Violettfärbg.	gelbe Flüssigkeit, keine Fällung
0,0050	do.	do.	do.
0,0055	do.	do.	do.
0,0062	do.	do.	do.
0,0083	do.	do.	do.
0,0125	do.	do.	do.
0,0500	blutrote Färbung	violette, etwas zunehmende Färbung	starke, blaue Fällung
0,0555	do.		
0,0715	do.		

In sämtlichen Fällen konnte also bis zur Konzentration des Reibungs- und Überführungsmaximums das vollständige Verschwinden der Reaktion auf Ferri-Ion nachgewiesen werden, die erst nach dem Maximum wieder auftritt. Diese Erscheinung der Ferri-Ionbindung an den Eiweißkomplex tritt in den angeführten Versuchen so schlagend zutage, daß dieselben als schöne Schulversuche empfohlen werden können.

Schließlich wurde noch der direkte Nachweis geführt, daß das Ferri-Ion bis zum Reibungsmaximum an einen kolloiden Komplex gebunden, also undialysabel geworden ist, indem in vergleichenden Versuchen erst in Konzentrationen nach dem

Reibungsmaximum $Fe^{\cdots}$-Ion in der Außenflüssigkeit nachweisbar wird, wenn die $FeCl_3$-Eiweißmischungen gegen destilliertes Wasser dialysiert werden.

Bei der in allen diesen Versuchen hervortretenden Übereinstimmung in den Eigenschaften verschiedener ionischer Eiweiße einerseits und neutralen Eiweißkomplexe andererseits, lag es nahe, die Analogie zwischen elektropositivem Säureeiweiß und den elektropositiven komplexen Ferri-Eiweißionen noch weiter zu führen. Wir wissen aus den Untersuchungen von Pauli und Wagner[1]), daß die durch Reibungsabnahme und wiederkehrende Alkoholkoagulierbarkeit angezeigte Neutralteilbildung beim Säureeiweiß schließlich im Überschuß der Säure zur Verdrängung des Säureproteins aus der Lösung und damit zu der bekannten typischen Säurefällung führt. In ähnlicher Weise geht auch im Überschuß des $FeCl_3$ die Neutralteilbildung der beschriebenen komplexen Verbindung in eine Fällung über, die sich bei diesem Salze als irreversibel bei Verdünnung erwies und nunmehr in noch höheren Konzentrationen des Salzes unlöslich bleibt. In diesem Verhalten scheint sie prinzipiell von der seinerzeit von Pauli[2]) untersuchten $ZnSO_4$-Fällung des nativen Eieralbumins verschieden, die erst in viel höheren Konzentrationen das zweitemal auftritt und bei Verdünnung reversibel ist.

Die Analogie mit dem Säureeiweiß reicht jedoch weiter. Für dieses haben Pauli und Handovsky[3]) gezeigt, daß ein Neutralsalzzusatz z. B. $NaNO_3$ auf der Höhe der Ionisation eine mächtige Neutralteilbildung zur Folge hat, kenntlich an einem jähen, schon bei 0,0001 n-Salzzusatz merklichen Reibungsabfall mit Restituierung der Hitze- und Alkoholkoagulierbarkeit. Diese Neutralteilbildung geht mit weiterem Salzzusatz bald in eine irreversible Ausflockung über. Ähnliches läßt sich auch bei unserem Fe-Eiweißkomplex konstatieren. Auf der Höhe der Ionisation im Maximum der Reibungskurve genügt eine Menge von 0,025 n-$NaNO_3$, um die starke Depression der Viscosität von $\eta = 1{,}1453$ auf $\eta = 1{,}0904$ sowie Wiederkehr

---

[1]) Anzeiger der Kais. Akademie der Wissensch. **1910**, Nr. 9.

[2]) l. c.

[3]) l. c.

der Alkoholkoagulierbarkeit und schließlich eine Konzentration von 0,05 n-$NaNO_3$, um irreversible komplette Fällung bei Zimmertemperatur zu erzeugen. Die mit Alkalisalz gebildeten Komplexe sind nach diesem Verhalten in viel geringerem Maße ionisiert und hydratisiert und viel lösungsinstabiler als die durch äquivalente Fe-Salzzugaben erzeugten. Es liegt wohl nahe, auch hier an die Bildung höherer innerer Komplexsalze zu denken, doch soll einer weiteren experimentellen Bearbeitung nicht vorgegriffen werden.

Durch die bisherigen Versuche ist eine große Mannigfaltigkeit der bei der Reaktion von Eiweiß mit $FeCl_3$ gebildeten Fällungen dargetan. Es bestehen tiefgreifende strukturelle Verschiedenheiten zwischen den Flockungen, die mit den reinen Metallhydroxydniederschlägen in eine Reihe zu stellen sind, und zwischen den Niederschlägen komplexer Salze, die im Überschuß des Schwermetallsalzes oder bei der Kombination mit Neutralsalz auftreten. Die Umkehr der Neutralsalzwirkung, welche in niederen Konzentrationen hemmenden, in höheren fällungsfördernden Effekt hat, erscheint hier in den strukturellen Unterschieden der reagierenden Komplexe wohl begründet. Es erhellt aber zugleich aus diesen Versuchen, wie wenig eine Methode, die nur den Unterschied fester und flüssiger Phase berücksichtigt, geeignet ist, einen wirklichen Einblick in die hier waltenden Gesetzmäßigkeiten zu gewähren und wie schwierig, ja unmöglich ohne willkürliche Fixierung der von vornherein in Reaktion gebrachten Mengen der Komponenten, bei den ständigen Verschiebungen der Gleichgewichte in der Lösung mit wechselnder Konzentration, die Isolierung reproduzierbarer Schwermetalleiweißverbindungen mittels rein analytischen Methoden sich gestalten muß. Am geeignetsten für eine annähernde Schätzung der maximal vom Eiweiß aufgenommenen Eisenmenge dürfte noch deren Berechnung aus dem Reibungsmaximum sein, bei dessen Überschreitung, wie die Versuche gezeigt haben, erst ein Auftreten freier Ferri-Ionen erkennbar wird. Nach dieser Rechnung würde 1 g Eiweiß bei maximaler Bindung 0,0288 g Fe aufnehmen.

Im allgemeinen zeigen andere Ferrisalze, wie die folgende Tabelle dies erkennen läßt, eine ähnliche Zonenbildung wie das Chlorid.

Tabelle G.

Konstante Eiweißmenge 0,808 %.

Normalität	$Fe_2(SO_4)_3$	$Fe(NO_3)_3$	$FeCl_3$
0,001	+++	+++	+++
0,002	---	---	+++
0,003	---	---	±
0,005	---	---	---
0,01	±	---	---
0,05	+++	---	---
0,1	+++	---	---
0,25	+++	±	---
0,5	+++	+++	---
1	+++	+++	±
1,5	+++	+++	+++

Nur für die Vorgänge der Wiederfällung in höheren Konzentrationen tritt ein deutlicher Einfluß des Anions hervor, indem das Sulfat schon in viel schwächeren Konzentrationen (0,05 n) des Salzes Wiederfällbarkeit (Übereinstimmung mit Säureeiweiß!) hervorruft, während bei gleichem Eiweißgehalt das Chlorid in 1 n Wiederfällung bewirkt; das Nitrat steht in der fällenden Kraft für die zweite Flockungszone zwischen Sulfat und Chlorid. Die Reihenfolge der Anionen in bezug auf die Beförderung der Wiederfällung im zweiten Flockungsgebiete lautet also

$$SO_4 > NO_3 > Cl.$$

Diese Reihenfolge stimmt genau überein mit älteren und neueren Beobachtungen von Pauli über die Fällung von Säureeiweiß durch Neutralsalze, bei der SO_4 durch seine besondere Befähigung zur Bildung neutraler Komplexe (ebenso wie die Trichloressigsäure) eine Sonderstellung einnimmt.

Für das erste Flockungsgebiet in niederen Konzentrationen gehen die Übergänge in Lösung verhältnismäßig wenig auseinander und die bestehenden Unterschiede lassen sich mit den geringen Differenzen in der hydrolytischen Dissoziation verschiedener Ferrisalze in Einklang bringen. Die Steigerung der Eiweißkonzentration hat, wie dies schon gelegentlich der $ZnSO_4$-Fällung von Pauli[1]) beobachtet und nach den hier entwickelten Vorstellungen über den Fällungsmechanismus verständlich ist,

[1]) l. c.

ein Zusammenrücken der zwei Flockungsgebiete zur Folge, so daß schließlich das Gebiet vollständiger Klärung zusammenschrumpfen oder auf eine Zone mit verminderter Niederschlagbildung beschränkt werden kann.

Ähnliche Verhältnisse wie die Ferrisalze zeigt das UrO_2Cl_2, bei dem nur die Abhängigkeit des Klärungsgebietes von der Eiweißkonzentration noch ausgesprochener ist, wie die folgende Tabelle dartut.

Tabelle H.

Normalität des UrO_2Cl_2	0,404 % Eiweiß	0,808 % Eiweiß
0,001	+++	+++
0,005	+++	+++
0,010	+++	+++
0,012	±	±
0,025	———	±
0,05	———	±±
0,125	+++	+++
0,25	+++	+++

Auch hier konnte in der Zone der Wiederlösung das Auftreten stark hydratisierter Komplexe mit Hilfe der Viscositätsbestimmung nachgewiesen werden; ebenso fand sich die Bildung eines typischen Reibungsmaximums. Über diese Erscheinungen belehrt die folgende Tabelle J und Figur 5.

Diese Versuche sprechen dafür, das auch bei diesem Salze jene Vorstellungen Geltung haben dürften, die für das Zustandekommen der Fällungen bei den Ferrisalzen entwickelt wurden.

Tabelle J.

Eiweißgehalt konstant 0,404 %; steigende Mengen UrO_2Cl_2; 0,404 % Eiweiß $\eta = 1{,}0206$; 0,250 n UrO_2Cl_2 $\eta = 1{,}0244$.

0,404 % Eiweiß + UrO_2Cl_2	η berechnet	η gefunden	Differenz
0,0125	1,0215	1,0390	0,0175
0,017	1,0225	1,0410	0,0185
0,025	1,0235	1,0430	0,0195
0,05	1,0268	1,0619	0,0351
0,55	1,0275	1,0694	0,0419
0,53	1,0272	1,0638	0,0356
0,062	1,0260	1,0657	0,0397
0,100	1,030	1,0552	0,025

Da systematische Prüfungen des Verhaltens von ganz reinem Eiweiß gegen Schwermetallsalze nicht vorliegen[1]), wurden endlich eine ganze Reihe solcher Salze, wenigstens in bezug auf ihr Verhalten bei der Flockung, untersucht. Die Versuche lehrten sämtlich, daß ausnahmslos die Flockungszone in niederen Konzentrationen und eine Wiederauflösung in hohen vorhanden sind. Dies gilt für $Cu^{\cdot\cdot}$, $Ag^{\cdot}$, $Pb^{\cdot\cdot}$, $Hg^{\cdot\cdot}$, $Zn^{\cdot\cdot}$. In allen diesen Fällen vermag Eiweißüberschuß die irreversible Flockung nicht in Lösung zu bringen, dagegen wird dieselbe ebenso ausnahmslos vor ihrem Maximum durch Neutralsalzzusatz rückgängig gemacht, über dem Maximum verstärkt.

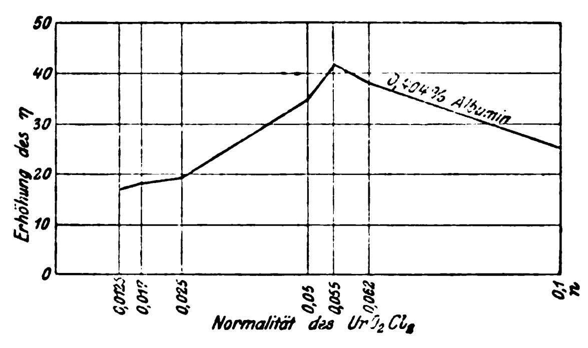


Fig. 5.

Die in der Literatur[2]) vorhandenen Angaben über eine Sonderstellung des Ag, dessen Flockung im Eiweißüberschusse löslich, im Salzüberschusse unlöslich sein soll, hängen mit dem Elektrolytgehalte der seinerzeit untersuchten Eiweißkörper zusammen und verschwinden bei dem nun verwendeten reinsten Albumin vollständig. Die Löslichkeit im Eiweißüberschusse erwies sich in Wirklichkeit als eine Löslichkeit im vorhandenen Neutralsalz. Sie fehlt bei dem in der vorliegenden Untersuchung verwendeten reinsten Eiweiß vollständig und konnte durch Salzzusatz hervorgerufen werden. Der nach den früheren Beobachtungen angenommene qualitative Unterschied im Verhalten der Eiweißflockung durch $Ag^{\cdot}$ gegenüber anderen

[1]) Die gelegentlichen Angaben von Pauli aus älterer Zeit entstammen rein qualitativen Versuchen. Auch bedarf es einer eingehenderen Prüfung der verwendeten Salzlösungen auf freie Säure.

[2]) Galeotti, l. c.; Pauli, l. c.

Schwermetallsalzen ist nur ein gradueller, abhängig von einer etwas größeren Neutralsalzempfindlichkeit der Silberflockung.

Dagegen ist die Erscheinung des Wiederauftretens der Flockung in den hohen Schwermetallsalzkonzentrationen bei den verschiedenen Salzen nicht gleichmäßig vorhanden, wenigstens bei den hier verwendeten Eiweißkonzentrationen. Sie fehlt bei den Cu-Salzen, beim $AgNO_3$ und $HgCl_2$, was allerdings bei dem letzteren auf der unzureichenden Löslichkeit dieses Salzes beruhen kann. Ein Teil der Versuche ist in den folgenden Tabellen zusammengefaßt.

Tabelle K.

Konstantes Eiweiß 0,808%.

Normalität	$CuSO_4$	$CuCl_2$	$HgCl_2$
0,0005	+++	+++	+++
0,001	+++	+++	+++
0,005	+++	+++	+++
0,01	+++	−−−	−−−
0,10	+++	−−−	−−−
0,25	+++	−−−	
0,5	−−−	−−−	
1	−−−	−−−	

Tabelle L.

Konstante Eiweißmenge 0,808%.

Normalität	$AgNO_3$	$ZnSO_4$	$Pb(NO_3)_2$
3		+++	
2		−−−	
1		−−−	+++
0,5	+++	−−−	+++
0,1	+++	+++	+++
0,05	+++	+++	+++
0,01	+++	+++	+++
0,005	+++	+++	−−−
0,003	+++	+++	−−−
0,001	+++	+++	−−−
0,0001	+++	+++	+++

Zum Unterschiede von $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$, $UrO_2^{\cdot\cdot}$ ist diese zweite Flockung bei $Zn^{\cdot\cdot}$ und $Pb^{\cdot\cdot}$ durch Verdünnung reversibel.

Daß die Wiederauflösung der ersten Flockung im Salzüberschuß bei allen Schwermetallsalzen auf einem ähnlichen Mechanismus der Komplexbildung beruhen dürfte, wie er bei den Ferrisalzen nachgewiesen wurde, ist im höchsten Maße wahrscheinlich. Abgesehen von der Übereinstimmung im Gange der Fällungs-

kurve spricht dafür das typische Verhalten gegen Neutralsalze, deren Wirkung genau wie bei den Eiweißreaktionen mit Metallhydroxyd beim Flockungsmaximum aus einer hemmenden in eine fällungsfördernde umschlägt. Ferner konnte gezeigt werden, daß in allen Fällen mindestens ein starker Reibungsabfall zwischen der Grenze der ersten Trübung in die Lösungszone weithin reichend nachweisbar ist. Dieses Verhalten gestattet den Beginn der Komplexbildung schon in den Abschnitt abnehmenden Niederschlages der ersten Flockungszone zu versetzen. Die Eigenart dieses Verhaltens der Reibungskurve wird besonders deutlich, wenn man damit die Erfahrungen vergleicht, die sonst bei der Reibung in der Nähe von Niederschlagsbildungen gewonnen wurden. Stets zeigt hier die Reibungskurve einen Abfall gegen den Bereich der beginnenden Niederschlagsbildung, während die Schwermetallsalze, bei denen ein Reibungsmaximum nicht ersichtlich ist, mindestens den ansteigenden Teil der Reibungskurve erkennen lassen, wenn von der Zone der Lösung zu der des ersten Fällungsbereiches zurückgegangen wird.

Hingegen war es nicht möglich, unter unseren Versuchsbedingungen mit den Chloriden von $Fe^{\cdot\cdot}$, $Co^{\cdot\cdot}$, $Mn^{\cdot\cdot}$, $Cd^{\cdot\cdot}$ und dem reinen Eiweiß Fällungsreaktionen zu erzielen.

* * *

Die mannigfach vorhandenen individuellen Besonderheiten in den Reaktionen der verschiedenen Schwermetallsalze werden noch reiches Material für die chemische Einzelforschung bieten, bei welcher wir uns auch der modernen optischen Methoden bedienen wollen. In dieser Untersuchung sollte im Prinzipe durchgeführt werden, daß die bei dem Studium der Beziehungen von elektrolytfreiem Eiweiß zu Säuren, Laugen und Salzen bewährten physikalisch-chemischen Methoden, auch für das Problem der komplizierten Schwermetallsalzeiweißbeziehungen mit Erfolg verwendet werden können. Wie durch die früheren Arbeiten am Säure- und Laugeneiweiß, so konnte auch durch diese Arbeit jene Richtung gefördert werden, die die kolloiden Reaktionen des Eiweiß mit seiner Struktur[1]) in Zusammenhang

[1]) Noch viel eingehender als bisher werden diese Beziehungen in einer folgenden Arbeit von Pauli und Samec hervortreten.

bringt, und wie sich beim Säure- und Laugeneiweiß die Elemente seiner Reaktionen schon in den Beziehungen einfacher Aminosäuren zu Elektrolyten vorgebildet erwiesen, so gilt dies auch für den hier untersuchten Fall, der wiederum nur einen höher differenzierten Typus der aminosauren Komplexsalze vorstellt.

Anhang.

Tabelle I.

Serumalbumin + kolloides Sb_2S_3.

Schwellenwert für die Fällung des Sb_2S_3: 0,033 n-KCl,
0,007 n-HCl.

Durch NaOH nicht gefällt.

	Sb_2S_3 %	Albumin %		+0,001 n-KCl	0,01 n-KCl	0,01 n-HCl	0,001 n-NaOH	0,1 n-Harnstoff	0,1 n-Zucker
Gleiche Mengen Sb_2S_3	0,066	0,055	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,117	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,130	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,147	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	1,167	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	1,195	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,234	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,293	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,391	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	0,587	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,066	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
Gleiche Mengen Albumin	0,033	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,022	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,016	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,013	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,011	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,009	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,007	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++
	0,003	1,174	+++	+++	———	———	———	+++	+++

0,1 n-KCl, 0,1 n-HCl, 0,01 n-NaOH verhindern gleichfalls die Fällung.

Anmerkung: In diesen Tabellen ist der Fällungseffekt folgendermaßen angedeutet:

+++ starke Ausfällung in klarer Flüssigkeit
++— geringe " " " "
+—— sehr geringe " " " "
——— keine Ausfällung; klare Flüssigkeit
$\pm\pm$ starke Trübung ohne Fällung
$\pm$ geringe " " "

Der Gehalt der Kolloide wurde überall gewichtsanalytisch bestimmt.

Tabelle II, III.

Serumalbumin + kolloides As_2S_3,
" + " CdS.

Schwellenwert für As_2S_3: 0,07 n-KCl, 0,025 n-HCl. Schwellenwert für CdS: 0,055 n-KCl, 0,01 n-HCl.

	Albumin %	As_2S_3 %		+ 0,1 n-KCl	+ 0,01 n-HCl	CdS %		+ 0,01 n-KCl	+ 0,01 n-HCl
Gleiche Mengen anorgan. Kolloid	0,055	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,089	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,101	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,115	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,134	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,161	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,202	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,269	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,404	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
	0,808	0,05	+++	— — —	— — —	0,037	+++	— — —	— — —
Gleiche Mengen Albumin	0,808	0,025	+++	— — —	— — —	0,019	+++	— — —	— — —
	0,808	0,016	+++	— — —	— — —	0,012	+++	— — —	— — —
	0,808	0,012	+++	— — —	— — —	0,009	+++	— — —	— — —
	0,808	0,010	+++	— — —	— — —	0,008	+++	— — —	— — —
	0,808	0,008	+++	— — —	— — —	0,007	+++	— — —	— — —
	0,808	0,007	+++	— — —	— — —	0,005	+++	— — —	— — —
	0,808	0,005	+++	— — —	— — —	0,002	+++	— — —	— — —
	0,808	0,003	+++	— — —	— — —				
	0,808	0,002	+++	— — —	— — —				

Harnstoff und Zucker haben keinen Einfluß auf die Fällung. Stärkere Säurekonzentrationen sowie Laugen und Salze verhindern die Fällung.

Tabelle IV, V.

Serumalbumin + kolloides CuS,
" + " Au.

Schwellenwert für die Fällung des CuS: 0,05 n-KCl, 0,01 n-HCl. Schwellenwert für die Fällung des Au: 0,1 n-KCl, 0,01 n-HCl.

Albumin %	CuS %		+ 0,01 n-KCl	+ 0,1 n-KCl	Au %		0,01 n-KCl	0,01 n-HCl
0,008	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,016	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,055	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,089	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,101	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,115	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,134	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,161	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —
0,202	0,09	— — —	— — —	— — —	0,014	+++	— — —	— — —

Tabelle IV, V (Fortsetzung).

Albumin %	CuS %		+ 0,01 n-KCl	+ 0,1 n-KCl	Au %		0,01 n-KCl	0,01 n-HCl
0,269	0,09	−−−	−−−	−−−	0,014	+++	−−−	−−−
0,404	0,09	−−−	−−−	−−−	0,014	+++	−−−	−−−
0,808	0,09	++−	−−−	−−−	0,014	+++	−−−	−−−
0,808	0,045	+++	+++	−−−	0,007	+++	−−−	−−−
0,808	0,030	+++	+++	−−−	0,005	+++	−−−	−−−
0,808	0,022	+++	+++	−−−	0,002	+++	−−−	−−−
0,808	0,018	+++	+++	−−−				
0,808	0,015	+++	+++	−−−				
0,808	0,010	+++	+++	−−−				
0,808	0,002	+++	+++	−−−				

Harnstoff und Zucker haben keinen Einfluß auf die Fällung. Säuren und Laugen hemmen stets.

Tabelle VI.

Serumalbumin + kolloides $Fe(OH)_3$.

Schwellenwert der Fällung des $Fe(OH)_3$: 0,0125 n-KCl,
0,0007 n-NaOH.

	$Fe(OH)_3$ %	Albumin %		+ 0,01 n-KCl	0,1 n-KCl	0,001 n-HCl	0,05 n-HCl	0,01 n-NaOH	0,1 n-Harnstoff	0,002 n-NaOH + 0,2 n-KCl	+0,002 n-HCl + 0,03 n-KCl
Gleiches $Fe(OH)_3$	0,331	0,117	−−−	+++	+++	−−−	−−−	+++	−−−	+++	+++
	0,331	0,130	−−−	+++	+++	−−−	−−−	+++	−−−	+++	+++
	0,331	0,146	−−−	+++	+++	−−−	−−−	+++	−−−	+++	+++
	0,331	0,167	−−−	+++	+++	−−−	−−−	+++	−−−	+++	+++
	0,331	0,195	++−	+++	+++	−−−	−−−	+++	++−	+++	+++
	0,331	0,234	++−	+++	+++	−−−	−−−	+++	++−	+++	+++
	0,331	0,293	++−	+++	+++	+−−	−−−	+++	++−	+++	+++
	0,331	0,391	±++	+++	+++	+++	−−−	+++	±++	+++	+++
	0,331	0,587	±++	+++	+++	+++	−−−	+++	±++	+++	+++
	0,331	1,174	+++	+++	+++	+++	−−−	+++	+++	+++	+++
Gleiches Albumin	0,220	1,174	+++	+++	+++	+++	−−−	+++	+++	+++	+++
	0,165	1,174	+++	+++	+++	+++	−−−	+++	+++	+++	+++
	0,132	1,174	++−	+++	+++	+++	−−−	+++	++−	+++	+++
	0,110	1,174	++−	++−	++−	+++	−−−	+−−	++−	+++	+++
	0,096	1,174	++−	++−	++−	+++	−−−	+−−	++−	++−	++−
	0,082	1,174	++−	++−	++−	++±	−−−	−−−	++−	++−	++−
	0,073	1,174	++−	++−	++−	++−	−−−	−−−	++−	++−	++−
	0,066	1,174	++−	++−	++−	−−−	−−−	−−−	++−	++−	++−
	0,060	1,174	++−	++−	++−	−−−	−−−	−−−	++−	++−	++−
	0,055	1,174	++−		−−−	−−−	−−−	−−−	++−		
	0,036	1,174	++−		−−−	−−−	−−−	−−−	++−		
	0,030	1,174	++−		−−−	−−−	−−−	−−−	++−		
	0,025	1,174	++−		−−−	−−−	−−−	−−−	++−		
	0,010	1,174	++−		−−−	−−−	−−−	−−−	++−		

Tabelle VII.

Serumalbumin + kolloides $Cr(OH)_3$.
Schwellenwert für die Fällung des $Cr(OH)_3$: 1 n-KCl
0,008 n-NaOH.

	$Cr(OH)_3$ %	Albumin %		0,01 n-KCl	0,1 n-KCl	0,001 n-HCl	0,001 n-NaOH
Gleiche Mengen $Cr(OH)_3$	0,066	0,117	−−−	−−−	±	−−−	−−−
	0,066	0,130	−−−	±	±±	−−−	−−−
	0,066	0,146	−−−	±	+++	−−−	−−−
	0,066	0,167	−−−	±	+++	−−−	−−−
	0,066	0,195	−−−	±	+++	−−−	±
	0,066	0,234	−−−	±±	+++	−−−	±
	0,066	0,293	−−−	±±	+++	−−−	±
	0,066	0,391	−−−	±±	+++	−−−	±
	0,066	0,587	−−−	+++	+++	−−−	±±
	0,066	1,174	±	+++	+++	−−−	+++
Gleiche Mengen Albumin	0,033	1,174	±±	+++	+++	−−−	+++
	0,220	1,174	+++	+++	±±	−−−	±±
	0,0165	1,174	+++	++−	±	−−−	±±
	0,013	1,174	+++	++−	±	−−−	±±
	0,011	1,174	+++	++−	±	−−−	±
	0,009	1,174	++−	++−	±	−−−	±
	0,008	1,174	++−	++−	−−−	−−−	±
	0,007	1,174	++−	+−−	−−−	−−−	−−−
	0,006	1,174	++−	+−−	−−−	−−−	−−−

Harnstoff und Zucker nehmen auf die Kolloid-Eiweißfällung keinen Einfluß.

Tabelle VIII.

Gelatine + kolloides $Fe(OH)_3$.
Schwellenwert für die Fällung des $Fe(OH)_3$: 0,0125 n-KCl.
0,0007 n-NaOH.

	$Fe(OH)_3$ %	Gelatine %		+ 0,01 n-KCl	+ 0,001 n-HCl	+ 0,01 n-NaOH	0,1 n-Harnstoff
Gleiche Mengen $Fe(OH)_3$	0,331	0,050	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,055	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,062	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,071	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,083	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,100	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,125	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,166	−−−	+++	−−−	+++	−−−
	0,331	0,250	++−	+++	−−−	+++	++−
	0,331	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
Gleiche Mengen Gelatine	0,220	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
	0,165	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
	0,132	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
	0,110	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
	0,094	0,500	+++	+++	−−−	+++	+++
	0,082	0,500	++−	++−	−−−	++−	++−
	0,073	0,500	++−	++−	−−−	++−	++−
	0,066	0,500	++−	++−	−−−	++−	++−
	0,060	0,500	++−	++−	−−−	++−	++−

Tabelle IX.

Gelatine + kolloides $Cr(OH)_3$.
Schwellenwert für die Fällung des $Cr(OH)_3$: 1 n-KCl.
0,008 n-NaOH.

	$Cr(OH)_3$ %	Gelatine %		+ 0,4 n-KCl	+ 0,001 n-HCl	+ 0,01 n-NaOH	+ 0,1 n-Harnstoff
Gleiche Mengen $Cr(OH)_3$	0,066	0,050	− − −	+ + +	− − −	− − −	− − −
	0,066	0,055	− − −	+ + +	− − −	− − −	− − −
	0,066	0,062	− − −	+ + +	− − −	− − −	− − −
	0,066	0,071	− − −	+ + +	− − −	− − −	− − −
	0,066	0,083	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,066	0,100	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,066	0,125	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,066	0,166	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,066	0,250	− − −	+ + +	− − −	± ±	− − −
	0,066	0,500	− − −	+ + +	− − −	± ±	− − −
Gleiche Mengen Gelatine	0,033	0,500	− − −	± ±	− − −	± ±	− − −
	0,022	0,500	− − −	±	− − −	± ±	− − −
	0,016	0,500	− − −	±	− − −	+ + −	− − −
	0,013	0,500	− − −	− − −	− − −	+ + −	− − −
	0,011	0,500	+ + −	− − −	− − −	+ + +	+ + −
	0,009	0,500	+ + +	− − −	− − −	+ + +	+ + +
	0,008	0,500	+ + +	− − −	− − −	+ + −	+ + +
	0,007	0,500	+ + ±	− − −	− − −	+ + −	+ + −
	0,006	0,500	+ + −	− − −	− − −	+ + −	+ + −

Tabelle X.

Serumalbumin + kolloide Kieselsäure.
Die verwendete Kieselsäure wird weder durch Säuren, Laugen noch durch Salze gefällt.

	Kieselsäure %	Albumin %		+ 0,1 n-KCl	+ 0,001 n-HCl
Gleiche Mengen Kieselsäure	0,214	0,055	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,089	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,101	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,115	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,134	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,161	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,202	− − −	+ + +	− − −
	0,214	0,269	±	+ + +	− − −
	0,214	0,404	±	+ + +	− − −
	0,214	0,808	± ±	+ + +	− − −
Gleiche Mengen Albumin	0,107	0,808	± ±	+ + +	− − −
	0,071	0,808	± ±	± ±	− − −
	0,053	0,808	+ + +	±	− − −
	0,043	0,808	+ + +	− − −	− − −
	0,036	0,808	+ + +	− − −	− − −
	0,030	0,808	+ + +	− − −	− − −
	0,027	0,808	+ + +	− − −	− − −
	0,023	0,808	+ + +	− − −	− − −
	0,021	0,808	+ + +	− − −	− − −

0,01 bis 1 n-HCl, sowie 0,01 n-NaOH verhindern jede Fällung.

Tabelle XI.

Serumalbumin + kolloide Molybdänsäure.

Die verwendete Molybdänsäure ist weder durch Säuren, noch durch Laugen oder Salze fällbar.

	Molybdänsäure %	Albumin %		+ 0,1 n-KCl	+ 0,01 n-HCl	+ 0,01 n-NaOH	+ 0,1 n-Harnstoff
Gleiche Mengen Molybdänsäure	0,152	0,055	− − −	+ + −	+ + −	− − −	− − −
	0,152	0,089	− − −	+ + −	+ + +	− − −	− − −
	0,152	0,101	±	+ + −	+ + +	− − −	±
	0,152	0,115	± ±	+ + +	+ + +	− − −	± ±
	0,152	0,134	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
	0,152	0,161	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
	0,152	0,202	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
	0,152	0,269	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
	0,152	0,404	+ + +	+ + +	±	− − −	+ + +
	0,152	0,808	+ + +	+ + +	− − −	− − −	+ + +
Gleiche Mengen Albumin	0,076	0,808	+ + +	+ + +	− − −	− − −	+ + +
	0,051	0,808	+ + +	+ + −	− − −	− − −	+ + +
	0,038	0,808	+ + +	− − −	− − −	− − −	+ + +
	0,030	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
	0,025	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
	0,021	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
	0,019	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
	0,015	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
	0,010	0,808	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −

Tabelle XII.

Serumalbumin + kolloide Wolframsäure.

Die verwendete Wolframsäure ist weder durch Säuren, noch durch Laugen oder Salze fällbar.

	Wolframs. %	Albumin %		+ 0,1 n-KCl	+ 0,01 n-HCl	+ 0,1 n-HCl	+ 0,01 n-NaOH	+ 0,1 n-Harnstoff
Gleiche Mengen Wolframsäure	0,268	0,055	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,089	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,101	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,115	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,134	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,161	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,202	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,269	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,404	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,268	0,808	− − −	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	− − −
Gleiche Mengen Albumin	0,134	0,808	− − −	±	+ + −	±	− − −	− − −
	0,089	0,808	− − −	− − −	+ + −	− − −	− − −	− − −
	0,067	0,808	− − −	− − −	+ + −	− − −	− − −	− − −
	0,055	0,808	− − −	− − −	+ + −	− − −	− − −	− − −
	0,044	0,808	− − −	− − −	+ − −	− − −	− − −	− − −
	0,038	0,808	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −
	0,033	0,808	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −
	0,028	0,808	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −
	0,026	0,808	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −

Tabelle XIII.

Gelatine + kolloide Kieselsäure.

Die verwendete Kieselsäure wird weder durch Säuren, noch durch Laugen oder Salze gefällt.

	Kieselsäure %	Gelatine %		+ 0,01 n-KCl	+ 0,001 n-HCl	+ 0,001 n-NaOH
Gleiche Mengen Kieselsäure	0,214	0,050	− − −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,055	− − −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,062	− − −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,071	+ + −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,083	+ + −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,100	+ + −	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,125	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,166	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,250	+ + +	+ + +	− − −	− − −
	0,214	0,500	+ + +	+ + +	− − −	− − −
Gleiche Mengen Gelatine	0,107	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,071	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,053	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,043	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,036	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,030	0,500	+ + +	+ + −	− − −	− − −
	0,027	0,500	+ + +	+ − −	− − −	− − −
	0,023	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −
	0,021	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −

Harnstoff und Zucker nehmen keinen Einfluß auf die Fällung. Stärkere Säurekonzentrationen wirken so wie 0,001 n-HCl.

Tabelle XIV.

Gelatine + kolloide Molybdänsäure.

Die verwendete Molybdänsäure wird weder durch Säuren, noch durch Laugen oder Salze gefällt.

Molybdänsäure %	Gelatine %		+ 0,1 KCl	+ 0,01 n-HCl	+ 0,01 NaOH	+ 0,1 n-Harnstoff
0,152	0,050	− − −	+ + +	+ + +	− − −	− − −
0,152	0,055	− − −	+ + +	+ + +	− − −	− − −
0,152	0,062	− − −	+ + +	+ + +	− − −	− − −
0,152	0,071	+ − −	+ + +	+ + +	− − −	+ − −
0,152	0,083	+ + −	+ + +	+ + +	− − −	+ + −
0,152	0,100	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
0,152	0,125	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
0,152	0,166	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
0,152	0,250	+ + +	+ + +	+ + +	− − −	+ + +
0,152	0,500	+ + +	+ + −	+ + +	− − −	+ + +
0,076	0,500	+ + +	+ + −	+ + −	− − −	+ + +
0,051	0,500	+ + +	+ + −	+ + −	− − −	+ + +
0,038	0,500	+ + +	+ + −	+ + −	− − −	+ + +
0,030	0,500	+ + +	+ + −	+ + −	− − −	+ + +
0,025	0,500	+ + +	+ − −	+ − −	− − −	+ + +
0,021	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
0,019	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
0,017	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −
0,015	0,500	+ + −	− − −	− − −	− − −	+ + −

Tabelle XV.

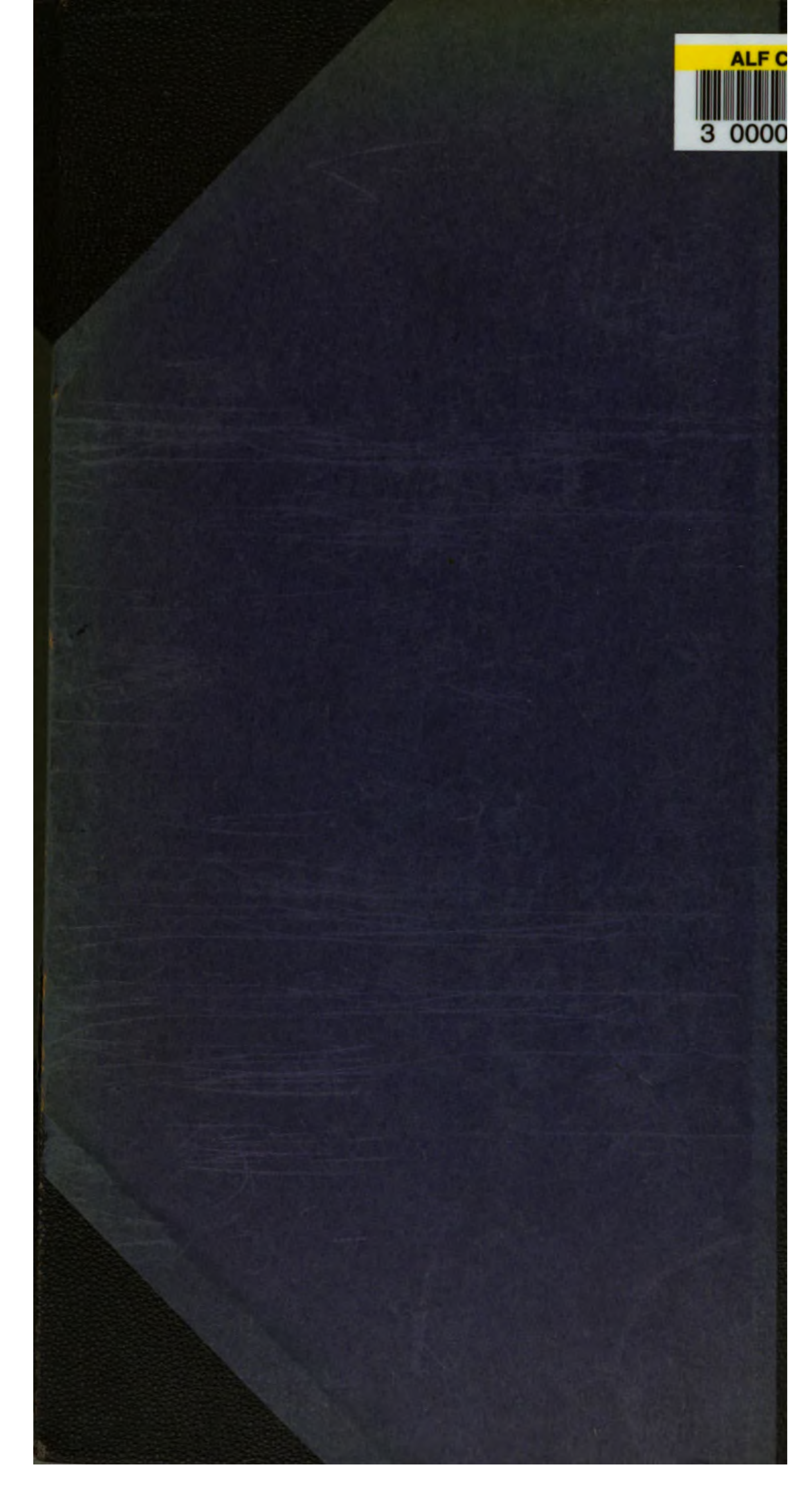
Gelatine + kolloide Wolframsäure.

Die verwendete Wolframsäure ist weder durch Säuren, noch durch Laugen oder Salze fällbar.

	Wolframs. %	Gelatine %		+ 0,1 n-KCl	+ 0,001 n-HCl	+ 0,01 n-HCl	+ 0,0010 n-NaOH
Gleiche Mengen Wolframsäure	0,268	0,050	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,268	0,055	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,268	0,062	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,268	0,071	− − −	+ + +	− − −	±	− − −
	0,268	0,083	− − −	+ + +	− − −	± ±	− − −
	0,268	0,100	− − −	+ + +	− − −	± ±	− − −
	0,268	0,125	− − −	+ + +	±	± ±	− − −
	0,268	0,166	− − −	+ + −	±	± ±	− − −
	0,268	0,250	− − −	+ + −	±	+ + +	− − −
	0,268	0,500	− − −	+ + −	±	+ + +	− − −
Gleiche Mengen Gelatine	0,134	0,500	− − −	+ + −	+ + +	+ + +	− − −
	0,089	0,500	− − −	+ + −	+ + +	+ + +	− − −
	0,067	0,500	− − −	+ + −	+ + +	± ±	− − −
	0,055	0,500	− − −	− − −	+ + +	±	− − −
	0,044	0,500	− − −	− − −	+ + +	±	− − −
	0,038	0,500	− − −	− − −	+ + +	− − −	− − −
	0,033	0,500	− − −	− − −	+ + −	− − −	− − −
	0,028	0,500	− − −	− − −	+ + −	− − −	− − −
	0,026	0,500	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −

Autorenverzeichnis.




ALF C
3 0000